

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN TERAPAN UNGGUL PERGURUAN TINGGI
(PTUPT)



STRATEGI PENCEGAHAN PENYAKIT VIBRIOSIS PADA
UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fabricius)
MENGGUNAKAN PRODUK BAHAN ALAMI

Oleh:

Dr.Ir.HARLINA,M.P (0901036501)

Dr. ST. SUKMAWATI. S. SE.,MM (0927126403)

Dr.Ir. SYAHRUL JAFAR (0926076401)

UNIVERSITAS MUSLIM INDONESIA MAKASSAR
NOVEMBER 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : STRATEGI PENCEGAHAN PENYAKIT VIBRIOSIS
PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fabricius)
MENGUNAKAN PRODUK BAHAN ALAMI

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. Ir HARLINA, M.P
Perguruan Tinggi : Universitas Muslim Indonesia
NIDN : 0901036501
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Budidaya Perairan
Nomor HP : 085397726822
Alamat surel (e-mail) : linausman1965@yahoo.com / harlina.harlina@umi.ac.id

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr. ST SUKMAWATI S.S.E.,M.M.
NIDN : 0927126403
Perguruan Tinggi : Universitas Muslim Indonesia

Anggota (2)

Nama Lengkap : Dr. Ir SYAHRUL DJAFAR M.M.
NIDN : 0926076401
Perguruan Tinggi : Universitas Muslim Indonesia

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 120,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 354,000,000

Mengetahui,
Ketua FPIK UMI



(Dr. Ir. Asbar, M.Si)
NIP/NIK 107890348

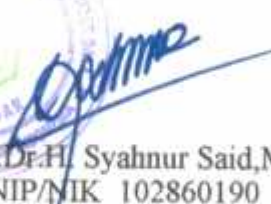


Kota Makassar, 21 - 11 - 2018
Ketua,



(Dr. Ir HARLINA, M.P)
NIP/NIK 107880273

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian UMI



(Prof. Dr. H. Syahnur Said, MS)
NIP/NIK 102860190



RINGKASAN

Penemuan senyawa bioaktif daun kopasanda sebagai antibakteri alami menjadi alternatif dalam pengendalian penyakit *vibriosis* penyebab kematian massal benur udang windu, untuk menggantikan penggunaan bahan-bahan kimia maupun antibiotik yang berdampak resistensi pada bakteri, adanya residu di tubuh udang dan mencemari lingkungan. Namun kendala yang dihadapi dalam aplikasinya adalah bahwa aplikasi dengan metode perendaman tidak efisien karena selain dibutuhkan produk bahan alami daun kopasanda dalam jumlah yang lebih besar, juga lebih banyak terbuang di media pemeliharaan, mengingat luasnya areal budidaya tambak.

Penggunaan produk bahan alami daun kopasanda yang diaplikasikan melalui pakan berpotensi untuk mengatasi ancaman serangan patogen terutama *vibriosis* pada usaha budidaya udang windu sehingga kelangsungan hidup udang windu dapat dipertahankan yang pada akhirnya akan meningkatkan produksi udang windu. Oleh karena itu sangat dibutuhkan kajian strategi pencegahan penyakit *vibriosis* pada udang windu dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami yang diaplikasikan melalui pakan.

Penelitian tahun pertama telah dilakukan terhadap pascalarva udang windu, diperoleh hasil bahwa pasca larva udang windu memiliki respon yang sangat baik terhadap pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dapat dikonsumsi dengan baik oleh pasca larva udang windu. Hal ini dibuktikan oleh tingginya sintasan dicapai 85,58 % pada konsentrasi 1750 ppm dengan konsentrasi populasi *Vibrio harveyi* pada pasca larva udang terendah.

Penelitian tahun ke tiga ini produk pakan yang dihasilkan pada tahun kedua diaplikasikan pada pembesaran udang windu di tambak untuk mengetahui pertumbuhan, kelangsungan hidup dan produksi serta uji kelayakan usaha udang windu di tambak. Penelitian tahun ke tiga dilaksanakan mulai bulan Maret sampai Agustus 2018. Indikator yang digunakan untuk menilai capaian tahapan penelitian ini adalah: (1) Pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang windu, (2). Produksi udang windu serta (3) uji kelayakan usaha budidaya udang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda efektif digunakan dalam pencegahan penyakit bacterial pada udang windu dengan tingkat kelangsungan hidup diperoleh mencapai 70% dengan kisaran produksi 746,32-942,37kg dengan luas tambak percobaan 0,4-0,5 ha. Berdasarkan hasil analisis kelayakan usaha budidaya diperoleh nilai R/C Ratio lebih Besar dari 1 sehingga layak untuk dikembangkan.

Luaran penelitian mengembangkan produk pakan organik dengan bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami pada udang windu adalah publikasi pada jurnal bereputasi, diseminarkan pada kegiatan seminar nasional atau internasional. Pengembangan produk pakan organik anti bakteri pada udang windu untuk pencegahan penyakit *vibriosis* pada udang windu.

Kata Kunci: Pencegahan *Vibriosis*, *Penaeus monodon* Fabr, Pakan Organik, Daun kopasanda (*Chromolaena odorata*),

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan kesehatan yang diberikan sehingga laporan kemajuan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi ini dengan Judul “ Strategi Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) dapat diselesaikan

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh tingginya angka kematian pasca larva udang windu yang disebabkan oleh serangan Vibriosis terutama oleh Vibriosis. Penelitian penggunaan bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) sebagai antibakteri alami telah dilakukan dan terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan merupakan kandidat yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif alami karena mampu menekan populasi *vibrio harveyi* penyebab penyakit vibriosis, namun metode yang digunakan dengan sistim perendaman namun kendala yang dihadapi adalah bahwa aplikasi dengan metode perendaman tidak efisien karena selain dibutuhkan antibakteri dalam jumlah yang lebih besar, juga lebih banyak terbuang di media pemeliharaan, sehingga memerlukan kajian yang lebih mendalam. Penelitian ini merupakan uji coba aplikasi bahan alami daun kopasanda melalui pakan di tambak pembesaran.

Penulisan laporan akhir ini masih kurang sempurna, sehingga sangat dibutuhkan saran dan kritik guna menyempurnakan tulisan ini, Akhirnya semoga tulisan ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu perikanan khususnya dalam upaya penanggulangan serangan vibriosis dalam kegiatan budidaya tambak

Makassar 18 Novemberr 2018

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	23
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	42
Instrumen Capaian	44
Sertifikat Seminar Internasional	45
Sertifikat Nasional	46
Draft Jurnal	47
Perolehan Haki Sederhana	54

DAFTAR TABEL

NO	TEKS	HALAMAN
1.	Rincian Target Capaian Tahunan	5
2.	Tipe Hemosit berserta fungsinya pada Crayfish dan Kepiting	11
3.	Karakteristik hemosit dari <i>Penaeus monodon</i>	12
4.	Bahan dan Alat Pembuatan Pakan Uji	23
5	Formulasi Pakan Uji	24
6	Detail Data Budidaya Udang Windu	27
7.	Rata-Rata Berat Udang setiap bulan	29
8.	Pertumbuhan Mutlak Udang Windu selama Penelitian ..	30
9.	Analisis Kelayakan Usaha Budidaya Udang Windu	32
10	Kualitas Air Media Budidaya Udang Winndu.....	35

DAFTAR GAMBAR

NO	Teks	Halaman
1.	Gambaran secara Skematik dari beberapa Faktor Penting dal Sistem Pertahanan Crustacea	16
2.	Peta Jalannya Penelitian	18
3	Total Hemosit (THC) gelondongan udang windu yang diberi Pakan Eang mengandung bahan alami dau kopasanda (<i>C. Odorata</i>)	29
4.	Aktifitas Prophenoloksidase (pro PO) Gelondongan udang windu yang diberi pakan bahan alami daun kopasanda (<i>C. Odorata</i>)	31
5	Sintasan Gelondongan Udang Windu yang diberi Pakan Bahan Alami Daun kopasanda (<i>C. Odorata</i>)	32
6	Kualitas Air Media Pemeliharaan Gelondongan Udang Windu	34
7	Hubungan Waktu pengamatan dengan Pertumbuhan Berat	36
8.		

DAFTAR LAMPIRAN

NO	Teks	Halaman
1	Instrumen Capaian	42
2	Sertifikat Seminar Internasional	45
3	Sertifikat Seminar Nasional	46
4	Draft Jurnal	47
5	Sertifikat haki sederhana	54

BAB I. PENDAHULUAN.

1.1. Latar Belakang

Udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) hingga saat ini tetap merupakan komoditas andalan di bidang perikanan budidaya, hal ini terbukti merupakan komoditas yang mendapat prioritas utama dalam Program Kementerian Kelautan dan Perikanan yaitu menjadikan Indonesia sebagai produsen perikanan terbesar, yang dikenal dengan Kebijakan Revolusi Biru (*The Blue Revolution Policy*) dengan peningkatan produksi sebesar 353 % dari produksi tahun 2010 (Subyakto, 2011).

Masalah utama dalam pengembangan usaha budidaya udang windu adalah rendahnya sintasan udang windu akibat kematian massal yang disebabkan oleh serangan penyakit. Salah satu jenis penyakit yang merupakan masalah serius adalah penyakit yang disebabkan oleh serangan *vibriosis* terutama *Vibrio harveyi* (Mariyono *et al.*, 2002). Bakteri ini menginfeksi hampir semua organisme budidaya laut seperti krustasea, moluska dan ikan (Isnansetyo *et al.*, 2009). Hasil penelitian secara *in vivo* menunjukkan bahwa *Vibrio harveyi* bersifat patogen pada pasca larva (PL-14) dengan kepadatan 10^7 CFU/ml (Khodria *et al.*, 2012). Kematian yang tinggi pada tahap pasca larva merupakan masalah serius sehingga harus ditanggulangi sebaik mungkin.

Hingga saat ini cara yang umum dilakukan untuk pencegahan maupun pengendalian penyakit *vibriosis* ini masih tetap mengandalkan bahan-bahan kimia dan antibiotik. Penggunaan bahan kimia dan antibiotik yang terus menerus dan tidak terkontrol berdampak resistensi pada bakteri, adanya residu di tubuh udang dan mencemari lingkungan. Selain itu akibat adanya antibiotik yang terakumulasi dalam tubuh udang oleh penggunaan antibiotik menyebabkan Negara Uni Eropa terus menyoroati produk perikanan Indonesia beberapa tahun terakhir dan memberlakukan *zero tolerance* terhadap produk perikanan Indonesia terutama udang windu. Bahkan Negara Uni Eropa mengancam akan melakukan embargo terhadap produk perikanan Indonesia terutama udang jika masih diindikasikan terkontaminasi dengan antibiotik, pestisida dan bahan kimia lainnya (Fattah, *et al.* 2008).

Alternatif pencegahan penyakit *Vibriosis* yang aman terhadap organisme sasaran, lingkungan maupun terhadap konsumen adalah dengan menggunakan produk antibakteri alami seperti produk bahan alami daun kopasanda (*C. odorata* L.). Penggunaan senyawa bioaktif daun kopasanda sebagai produk antibakteri alami secara tidak langsung dapat meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup, meningkatkan resistensi terhadap penyakit dan dapat memodulasi parameter imun (Total Haemocyte Count (THC), Differential Haemocyte Count (DHC). Tanaman kopasanda berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat mencegah infeksi *Vibrio* spp. dengan jalan meningkatkan aktivitas fagositosis. Meningkatnya ketahanan tubuh dapat diketahui dari meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit dari hemosit. Sel-sel fagositik ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum mampu melindungi adanya serangan penyakit.

Berbagai penelitian terdahulu yang dilakukan Harlina *et al* (2013a) telah membuktikan bahwa daun kopasanda mengandung senyawa bioaktif yang potensi digunakan sebagai anti bakteri alami yaitu flavonoid, alkaloid, steroid, saponin dan tannin. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri senyawa bioaktif daun kopasanda telah diketahui bahwa ekstrak daun kopasanda memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan merupakan kandidat yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif alami karena mampu menekan populasi *vibrio harveyi* penyebab penyakit vibriosis secara *in vitro* (Harlina 2013b). Lebih lanjut Harlina *et al* (2013c) melaporkan bahwa aplikasi senyawa bioaktif daun kopasanda tidak toksik terhadap pasca larva udang windu, terbukti dari analisis histopatologi, perendaman senyawa aktif daun kopasanda tidak merusak jaringan hepatopankreas larva udang windu (Harlina, 2014), sehingga aman digunakan sebagai antibakteri alami dalam pencegahan vibriosis pada budidaya udang windu.

Penggunaan antibakteri alami melalui metode perendaman telah dilakukan, namun kendala yang dihadapi adalah bahwa aplikasi dengan metode perendaman tidak efektif dan tidak efisien karena selain dibutuhkan antibakteri

dalam jumlah yang lebih besar, juga lebih banyak terbuang di media pemeliharaan, mengingat luasnya areal budidaya tambak. Oleh karena itu sangat dibutuhkan kajian “strategi pencegahan penyakit vibriosis pada udang windu dengan menggunakan antibakteri alami daun kopasanda yang diaplikasikan melalui metode pencampuran ke dalam pakan.

Penelitian tahun pertama telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa pasca larva udang windu memiliki respon yang sangat baik terhadap pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dapat dikonsumsi dengan baik oleh pasca larva udang windu. Hal ini dibuktikan oleh tingginya pertumbuhan dan sintasan pasca larva udang windu. Pasca larva udang windu yang dipelihara dengan pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda setelah diuji tantang dengan *Vibrio harveyi* menunjukkan sintasan tertinggi dicapai 85,58 % pada konsentrasi 1750 ppm dengan konsentrasi populasi *Vibrio harveyi* pada pasca larva udang terendah. Oleh karena itu perlu penelitian lanjutan pada tahun ke dua untuk mengaplikasikan hasil penelitian tahun pertama.

Penelitian tahun kedua adalah bertujuan memproduksi pakan organik yang mengandung bahan alami daun kopasanda (Hasil Penelitian Tahun I) yang diujicobakan pada gelondongan udang windu, untuk mengetahui kemampuannya meningkatkan respon imun gelondongan udang windu (*P. monodon* Fabr.) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dapat meningkatkan respon imun gelondongan udang windu (*P. Monodon* Fabr.) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*, ditandai dengan meningkatnya jumlah hemosit (THC), dan aktivitas phenoloksidase (PO). Respon imun tertinggi diperoleh dengan pada konsentrasi 1500 mg/kg pakan. Meningkatnya respon imun udang menyebabkan daya tahan udang terhadap infeksi *Vibrio harveyi* meningkat, sehingga kelulushidupan gelondongan udang windu *P.monodon* yang diinfeksi *V. harveyi* lebih tinggi dari pada perlakuan tanpa bahan alami daun kopasanda (kontrol).

Penelitian tahun ke tiga ini bertujuan untuk mengaplikasikan produk pakan yang dihasilkan penelitian tahun kedua pada pembesaran udang windu di tambak untuk mengetahui pertumbuhan, kelangsungan hidup dan produksi serta

uji kelayakan usaha udang windu di tambak

Penelitian tahun ke tiga dilaksanakan pada bulan Maret-Agustus tahun 2018. Seluruh rangkaian kegiatan penelitian dilaksanakan pada Tambak Pembesaran di Kabupaten Pangkep, Sulawesi Selatan. Indikator yang digunakan untuk menilai capaian pada seluruh tahapan penelitian ini adalah: (1) Pertumbuhan udang windu, (2) Kelangsungan hidup udang windu, (2). Produksi udang windu pada akhir pemeliharaan serta (4) tingkat kelayakan usaha pada budidaya di tambak.

1.2. Tujuan Penelitian

Secara umum Penelitian strategi pencegahan penyakit Vibriosis pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) dengan produk bahan alami bertujuan untuk mendapatkan teknik pencegahan vibriosis yang aman dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda (*Cromolaena odorata* L.) dengan metode pencampuran ke dalam pakan.

Secara khusus pada tahun pertama tujuan penelitian tahun pertama yaitu pemanfaatan produk bahan alami daun kopasanda melalui pakan yang diberikan pada udang windu dilakukan untuk mengetahui efektifitas pemanfaatan produk bahan alami daun kopasanda terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang windu serta populasi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu.

Penelitian tahun kedua adalah bertujuan memproduksi pakan organik yang mengandung bahan alami daun kopasanda (Hasil Penelitian Tahun I) yang diujicobakan pada gelondongan udang windu, untuk mengetahui kemampuannya meningkatkan respon imun gelondongan udang windu (*P. monodon* Fabr.) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*,

Penelitian tahun ke tiga ini bertujuan untuk mengaplikasikan produk pakan yang dihasilkan penelitian tahun kedua pada pembesaran udang windu di tambak untuk mengetahui pertumbuhan, kelangsungan hidup dan produksi serta uji kelayakan usaha udang windu di tambak

Penelitian tahun ke tiga dilaksanakan pada bulan Maret-Agustus tahun 2018. Seluruh rangkaian kegiatan penelitian dilaksanakan pada Tambak Pembesaran di Kabupaten Pangkep, Sulawesi Selatan. Indikator yang digunakan

untuk menilai capaian pada seluruh tahapan penelitian ini adalah: (1) Pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang windu, (2). Produksi udang windu pada akhir pemeliharaan serta (3) tingkat kelayakan usaha pada budidaya di tambak.

.1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini sangat bermanfaat dalam menentukan metode yang tepat dalam penggunaan daun kopasanda dalam upaya pencegahan penyakit vibriosis yang lebih efektif dan efisien dan aman bagi udang ,manusia dan lingkungan. Keberhasilan pencegahan penyakit *vibriosis* dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami menjadi temuan penting dalam pengembanganIptek dalam upaya pencegahan penyakit *vibriosis* yang sangat meresahkan usaha pertambakan udang secara nasional.

Secara rinci manfaat yang diharapkan dari penelitian ini dari segi teknis adalah dengan ditemukannya suatu metode aplikasi daun kopasanda sebagai antibakteri alami yang efektif dan efisien dalam penanggulangan penyakit vibriosis penyebab kematian massal larva udang windu yang lebih aman dan ramah lingkungan karena sifatnya alami, akan bermanfaat dalam mengatasimasalah utama dalam budidaya udang windu baik pada pembenihan maupun di tambak. Sedangkan dari segi ekonomis tentunya akan sangat menguntungkan karena permasalahan rendahnya produksi larva udang windu pada industri pembenihan udang windu dapat diatasi, sehingga dapat meningkatkan produksi benih udang windu. Hal ini akan sangat berguna dalam pengembangan pembangunan perikanan dimasa datang..

Bagi institusi peneliti, penelitian ini memberikan manfaat bagi peningkatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (IPTEK) di bidang budidaya perairan khususnya dibidang pengendalian penyakit pada budidaya perairan, menambah, memperbaharui bahan ajar dalam perkuliahan mahasiswa

1.4. Urgensi Penelitian

Penemuan senyawa bioaktif daun kopasanda sebagai antibakteri alami (Harlina *et al*, 2013) menjadi alternatif dalam strategi pencegahan penyakit *vibriosis* penyebab kematian massal benur udang windu. Produk bahan alami

daun kopasanda yang diaplikasikan melalui pakan sangat potensial dikembangkan untuk mengatasi ancaman serangan patogen terutama *vibriosis* pada usaha budidaya udang windu, untuk menggantikan penggunaan bahan-bahan kimia maupun antibiotik yang berdampak resistensi pada bakteri, adanya residu di tubuh udang dan mencemari lingkungan. Temuan utama penelitian ini adalah dihasilkannya teknologi penanggulangan *vibriosis* yang aman, efektif dan efisien pada udang windu menggunakan produk bahan alami daun kopasanda serta produk bahan alami daun kopasanda yang dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan-kimia dan antibiotik yang beredar saat ini.

Keberhasilan pencegahan penyakit *vibriosis* dengan menggunakan produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami menjadi temuan penting dalam pengembangan iptek dalam upaya pencegahan penyakit *vibriosis* yang sangat meresahkan usaha pertambakan udang secara nasional.

1.5. **Temuan yang Ditargetkan**

Temuan yang ditargetkan pada penelitian ini meliputi produk berupa pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami, teknologi tepat guna (TPG), publikasi, dan hak kekayaan intelektual (HKI) sebagai berikut:

1. Produk yang akan dihasilkan berupa produk bahan alami daun kopasanda sebagai antibakteri alami yang telah dicampur ke dalam pakan
2. Teknologi tepat guna (TPG) yang akan dihasilkan Pengembangan teknologi pencegahan penyakit *vibriosis* yang ramah lingkungan
3. Publikasi yang akan dihasilkan pada penelitian ini pada jurnal internasional yang bereputasi.
4. Bahan ajar berISBN

Tabel 1.1. Rincian Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			TS1	TS2	TS3
1.	Publikasi Ilmiah	Internasional	<i>submitted</i>	<i>Submitted</i>	Publish
		Nasional Terakreditasi			
2.	Pemakalah dalam pertemuan ilmiah	Internasional		sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan
		Nasional	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan
3.	Teknologi Tepat Guna		draf	Draf	produk
4.	Buku Ajar (ISBN)		draf	Draf	<i>Proses editing/sudah terbit</i>
5.	Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT)		4	5	6

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit *Vibriosis* pada Larva Udang Windu

Vibriosis adalah nama penyakit pada ikan/udang yang disebabkan oleh bakteri *vibrio* spp. dan saat ini *vibriosis* merupakan penyakit yang umum dijumpai pada pembenihan udang. *Vibriosis* adalah penyakit yang paling meresahkan dalam industri budidaya udang windu karena telah menyebabkan kematian massal pada udang windu. Penyakit ini sangat akut dan ganas karena dapat memusnahkan populasi benur udang yang terserang hanya dalam waktu 1-3 hari sejak gejala awal tampak. Udang yang terserang sangat sulit untuk diselamatkan sehingga seluruh udang yang ada terpaksa dibuang atau dimusnahkan (Prajitno,A., 2007). Oleh karena itu, upaya pencegahan jauh lebih baik daripada upaya pengobatan. Penyakit *Vibriosis* diakibatkan oleh bakteri yang bercahaya (*Luminescent*; berpendar). Penyakit ini dikenal dengan penyakit *kunang-kunang* karena udang yang terserang pada keadaan gelap akan nampak bercahaya seperti kunang-kunang.

Vibriosis umumnya disebabkan oleh bakteri dari genus *Vibrio*, khususnya *Vibrio harveyi*. Bakteri ini tergolong dalam family *Vibrionaceae* dan dapat menyerang hampir semua jenis organisme laut yang dibudidayakan seperti *Crustacea*, moluska dan ikan (Isnansetyo *et al.*, 2009). *Krustasea*, termasuk udang, kepiting, lobster dan *Artemia* sangat rentan terhadap bakteri patogen oportunistik ini (Jivaranichpaisal *et al*, 1994;. Karuna Sagar *et al*, 1994;. Liu *et al*, 1996;. Robertson *et al*, 1998;. Diggles *et al*, 2000;. Soto-Rodriguez *et al.*, 2003;. Borne *et al*, 2007)

Hasil pemantauan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau tentang penyebaran bakteri *vibrio* di Sulawesi Selatan ditemukan 25 spesies bakteri *vibrio* pada tambak pembesaran udang windu yang di isolasi dari air, sedimen dan organisme perairan (Nurhidayah *etal.*, 1999). Untuk itu dalam usaha budidaya diupayakan system budidaya yang tepat, larva terhindar kondisi stress dengan menciptakan kondisi lingkungan yang optimal sesuai dengan kebutuhan biologi udang.

Pada umumnya kejadian penyakit vibriosis merupakan kombinasi dari faktor stress fisik atau infeksi primer yang diikuti dengan infeksi pathogen lainnya (Sung *et al.*, 2001). Penelitian menunjukkan bahwa udang yang diuji tantang dengan cara diekspos stress ammonium memiliki kerentanan yang tinggi terhadap *Vibrio* sp. (Liu dan Chen, 2004). Pengaruh dari beberapa faktor terhadap daya tahan tubuh udang inilah yang dapat menjelaskan tingginya variasi mortalitas pada udang yang terserang bakteri vibrio. Tingkat mortalitas udang bervariasi dari hanya beberapa ekor udang sampai 100 % dari seluruh populasi.

Selama satu dekade, strain dari bakteri *V. harveyi* dilaporkan menjadi agen patogen utama yang menyebabkan tingginya tingkat kematian pada industri budidaya udang di seluruh dunia (Karunasagar *et al.*, 1994; Saeed, 1995; Liu *et al.*, 1996). Penyakit kunang-kunang atau udang berpendar merupakan masalah yang cukup serius dalam budidaya udang windu (*P. monodon*) (Austin dan Zhang, 2006). Tingkat kematian pada larva udang *Penaeus monodon* dan *Penaeus merguensis* yang disebabkan oleh penyakit kunang-kunang dilaporkan terjadi di beberapa panti perbenihan di Indonesia (Sunaryanto and Mariam, 1986), Taiwan (Song and Lee, 1993), dan Asia (Jiravanichpaisal *et al.*, 1994) dengan kematian larva *P. monodon* dan *P. japonicus* mencapai 100% (Liu *et al.*, 1996). Serangan *V. harveyi* pada udang penaeid sering pula dinamai dengan *penaeid vibriosis*, *penaeid bacterial septicaemia*, vibrio berpendar dan penyakit kaki merah.

2.2 . Patogenitas *Vibrio harveyi* pada Udang Windu

Patogenitas adalah potensi suatu organisme menimbulkan penyakit atau menginfeksi (Prajitno, 2007). Tetapi ada kemungkinan suatu jenis bakteri vibrio mempunyai kelebihan untuk menerobos suatu bagian tubuh udang dibanding jenis bakteri lainnya. Hal ini diakibatkan oleh adanya produksi enzim yang sangat penting peranannya pada proses patogenitas. Hasil Penelitian yang dilakukan oleh Murjani (2002) dalam uji infeksi dengan cara perendaman yang dilanjutkan dengan pengamatan histopatologi pada bakteri *V. anguillarum* dan *V. ordalii* sebagian besar menyerang udang melalui saluran pencernaan terutama usus dan sebagian kecil melalui kulit. Informasi tentang proses infeksi suatu bakteri terhadap ikan atau udang masih terbatas. Tidak semua patogen yang masuk ke

dalam tubuh ikan atau udang akan menimbulkan penyakit, sebab banyak patogen yang memerlukan jalan masuk tertentu untuk dapat menimbulkan penyakit pada ikan atau udang. Bakteri dapat menyerang ikan atau udang melalui mulut, saluran pencernaan, insang, kulit dan gurat sisi. (Horne, 1982 *dalam* Prajitno, 2006).

Pada prinsipnya bakteri berpendar hanya bersifat oportunistik bagi larva sebab bakteri berpendar umumnya ditemukan di perairan laut dan pantai bahkan di dalam saluran pencernaan udang itu sendiri. Bakteri bercahaya berubah menjadi patogen bila terjadi perubahan lingkungan secara mendadak akibat perubahan iklim, suhu, pergantian air, pemindahan larva, stress, pada penebaran yang tinggi, dan lain-lain. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri berpendar bersifat pathogen bagi larva udang windu bila populasinya dalam air pemeliharaan mencapai 10^4 sel/ml dan akan mengakibatkan kematian larva sampai 90 % (Zafran dan D.Rosa 1993; Muliani *et al.*, 1996). Pada stadium nauplius, larva belum mempunyai saluran pencernaan dan belum melakukan aktivitas makan sehingga bakteri hanya menempati permukaan tubuh udang.

Vibrio harveyi bersifat patogen oportunistik pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder (Prajitno, 2006). Lebih lanjut dijelaskan bahwa *V. harveyi* bersifat patogen primer manakala bakteri ini menyerang masuk ke dalam tubuh udang melalui kontak langsung sedangkan, sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi udang yng telah terserang penyakit lain misalnya parasit.

Virulensi suatu bakteri tidak hanya bergantung pada bakteri itu sendiri, akan tetapi juga sangat ditentukan kemampuan inang dalam melawan masuknya patogen. Beberapa faktor yang mempengaruhi virulensi bakteri antara lain: kemampuan bakteri memproduksi toksin baik eksotoksin maupun endotoksin, enzim mengatasi ketahanan inang dan kecepatan berkembang biak (Bullok, 1971 dan Pelczar, 1996 *dalam* Prajitno, A. 2006). Beberapa jenis bakteri telah diketahui dapat menghasilkan toksin yang memiliki kemampuan untuk menimbulkan penyakit (Kamiso, 1996).

2.3. Antibakteri alami

Antibakteri alami adalah substansi yang mampu menghambat/membunuh bakteri. Antimikrobal terdiri dari dua jenis yaitu; fungisida dan bakterisida.

Fungisida dan bakterisida dari alam yang dikenal dengan fungisida dan bakterisida alami adalah bahan aktif fungisida dan bakterisida yang diambil atau dikembangkan dari alam, dan bukan merupakan hasil sintesa di laboratorium (Djojosumarto, 2012). Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis yaitu; bakteriostatik dan bakteriosida. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (menghambat perbanyakan populasi bakteri), namun tidak mematikan. Sedangkan bakterisida adalah zat antibakteri yang memiliki aktifitas membunuh bakteri. Namun ada beberapa zat antibakteri yang bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisida pada konsentrasi tinggi.

Beberapa kelompok bahan antibakteri seperti fenol, alkohol, halogen, logam berat, detergen, aldehida, dan kemosterilisator gas, senyawa fenol paling banyak digunakan karena senyawa tersebut tidak hanya terdapat pada antibiotik sintetik, namun pada senyawa alam yang dikenal sebagai polifenol (Cowan, 1999). Menurut Volk dan Wheeler (1993), senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Adanya senyawa fenol ini menyebabkan kerusakan pada membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting yang menonaktifkan sistem enzim bakteri sedangkan, pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sel sitoplasma dan mengendapkan protein sel. Senyawa fenol ini dapat berinteraksi dengan komponen dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan dapat pula berdifusi ke dalam sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati selain itu, senyawa ini juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi (Nakura dan Yamoto 1982 dalam Trisnawati dan Susanto, 2003).

Selain fenol sebagai zat antibakteri yang banyak dipergunakan, jenis-jenis antibiotik juga banyak dipergunakan sebagai bakterisida pada industri budidaya, khususnya budidaya udang windu. Antibiotika adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup termasuk struktur analognya yang dibuat secara sintetik yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses

penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme. Jenis antibiotik yang umum digunakan untuk penanggulangan penyakit udang windu seperti kloramfenikol, oksitetrasiklin, prefuran, dan sebagainya (Brown, 1989). Namun penggunaan antibiotik sebagai zat antibakteri mempunyai efek negatif seperti timbulnya [resistensi](#) bakteri terhadap aktivitas kerja obat. Penggunaan bahan alam juga sudah mulai digunakan, namun masih terbatas pada penggunaan saponin, rotenon dan nistatin. Studi tentang penggunaan bioaktif senyawa sudah dilakukan terhadap beberapa tumbuhan seperti, penggunaan biji bengkoang, racun buah, umbi gladiol yang telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonassp.* and *Pseudomonas sp.* terhadap ikan (Suryati, 1993 dan Suryati dan Hala, 1993). Penggunaan bahan alam sebagai sumber bakterisida mempunyai beberapa keuntungan seperti aman terhadap lingkungan perairan karena mudah terurai sehingga tidak menimbulkan akumulasi yang bisa menyebabkan memburuknya kualitas air.

Dengan adanya senyawa bioaktif yang dikandung oleh tumbuhan ini yang terbukti memiliki daya hambat terhadap berbagai macam mikroorganisme patogen maka terbuka peluang pemanfaatan tumbuhan *C.odorata* L., untuk digunakan sebagai antimikroba dalam pengendalian mikroorganisme patogen penyebab penyakit dalam budidaya perairan.

2.4 Sistem Imun Udang

Udang windu adalah termasuk krustase yang hanya memiliki sistem imun nonspesifik dalam mempertahankan tubuhnya terhadap serangan patogen. Komponen sistem imun non spesifik pada udang windu meliputi: fisik, seluler dan humoral (Supamattaya *et al.*, 2000). Selanjutnya dijelaskan bahwa pertahanan fisik yang berperan sebagai pertahanan terluar pada udang adalah kulit, sedangkan system imun seluler terdiri dari hemosit dan fixed phagocytes (sel yang tidak bergerak yang tersebar pada insang, jantung, dan jaringan pengikat).

2.4.1 Sel Hemosit

Udang windu seperti halnya arthropoda yang lain, memiliki system sirkulasi darah terbuka dimana cairan darah dan sel darahnya masing-masing

dikenal dengan istilah hemolim (*haemolymph*) dan hemosit (*haemocytic*) (Van de Braak, 2002 *diacu dalam* Ekawati, 2011)). Hemosit ini dihasilkan oleh jaringan hematopoeitik yang terletak di sekitar lambung.

Hemosit memegang peranan penting dalam respon seluler pertahanan tubuh udang yang meliputi fagositosis, enkapsulasi, melanisasi, cytotoxsisites dan komunikasi antar sel. Berdasarkan ada tidaknya granula sitoplasma hemosit dibagi menjadi 3 jenis yaitu hyaline, sel semigranular, dan sel granular (Johansson *et al.*, 2000) Rodriguez dan Moullac, 2000). Setiap tipe sel aktif dalam reaksi pertahanan misalnya, pada Cray fish (udang karang), sel-sel hialin terutama terlibat dalam fagositosis, sementara sel semigranular adalah sel-sel aktif di enkapsulasi sedangkan, sel-sel granular berpartisipasi dalam penyimpanan dan pelepasan system prophenoloxidase proPO dan sitotoksitas seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. 2. Tipe Hemosit berserta fungsinya pada Crayfish dan Kepiting

Crayfish and crab haemocytes	
Haemocyte type	Function in immunity
Hyaline cell	Phagocytosis ^a
Semigranular cell	Encapsulation ^b
	Phagocytosis (limited) ^a
	Storage and release of the proPO system ^c
	Cytotoxicity ^d
Granular cell	Storage and release of the proPO system ^c
	Cytotoxicity ^d

Only references to studies using isolated haemocyte populations are included

^aSmith and Söderhäll (1983b), Söderhäll *et al.* (1986), Thörnqvist *et al.* (1994).

^bPersson *et al.* (1987a), Kobayashi *et al.* (1990)

^cJohansson and Söderhäll (1985).

^dSöderhäll *et al.* (1985).

Jumlah hemosit udang windu yang dihitung menggunakan coulter Caunter ZM adalah $50,9 \times 10^6 \pm 17,7 \times 10^6$ sel/ml (Van de Braak *et al.*, 1996) Pada penelitian lain menunjukkan bahwa udang windu sehat total hemositnya antara $10^4 - 10^6$ sel/ml. Konsentrasi oksigen yang rendah dan adanya infeksi penyakit akan menyebabkan total hemosit dalam darah berkurang (Supemattaya *et al.*, 2000).

Karakter sel hemosit pada *Penaeus monodon* dijelaskan Van de Braak *et al.*, 1996 berdasarkan morfologinya yang diamati dengan mikroskop cahaya dengan pewarnaan giensa.

Tabel 2.3 Karakteristik hemosit dari *Penaeus monodon*

Tipe sel	Bentuk Nukleus	Warna nucleus	Bentuk sel	Warna Cytoplasma
1	Bulat, oval atau berbentuk bulat	Biru	Bulat atau lonjong	Merah
2	Oval atau sedel	Biru	Lonjong	Tak berwarna atau merah terang
3	Bulat, oval, atau bentuk sedel	Biru	Bulat atau oval	Tak berwarna atau merah terang
4	Tidak Nampak	Isi berwarna biru	Mengandung butiran	Berwarna merah
5	Bulat atau oval	Biru tua	Bulat dan kecil	Tak berwarna

Sumber: Van De Braak et al., 1996

Dengan menggunakan mikroskop cahaya, hemosit *Penaeus monodon* dapat dibagi menjadi lima tipe seperti Tabel 1. Bila dicermati dalam gambaran ultra strukturnya dengan mikroskop elektron (Gambar 2) hemosit dapat dibagi dalam sel hialin, semi glanular, dan glanular. Perbandingan gambar hemosit dengan pengamatan mikroskop cahaya dan mikroskop electron, Van DE Braak 1996) menyatakan bahwa tipe sel 1 sebagaimana teramati dengan mikroskop cahaya merupakan sel granula, sel tipe 2 dan 3 merupakan sel semigranular dan tipe 5 merupakan sel hyaline, sedangkan sel tipe 4 adalah granula tanpa nucleus

Sel-sel hemosit yang terdapat pada udang windu memiliki fungsi tersendiri. Sel hyaline berperan dalam proses fagositosis dan aktifitas seperti halnya makrofage pada ikan dan binatang berdarah panas lainnya. Sel ini memiliki sedikit sekali granula pada sitoplasmanya (Lio-Po et al., 2001)

Pagositosis merupakan suatu upaya multiphase yang memerlukan langkah-langkah sebagai berikut: Pengenalan (recognition) dari benda yang akan dicerna, gerakan ke arah objek (kemotaksis), perlekatan, penelanan (ingestion) dan selanjutnya pencernaan (digestion) intra seluler oleh mekanisme mekanisme anti mikroba (Wahab dan Soeripto, 1993)

Sel semigranula dikarakteristikan dengan terdapatnya granula pada sitoplasma. Sel ini mampu merespon poli sakarida dan dinding sel bakteri atau beta glukon yang berasal dari jamur. Sel semigranulosa ini dapat melakukan

proses enkapsulasi dan sedikit berperan dalam proses fagositosis (Johansson *et al.*, 2000)

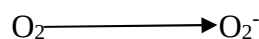
Sel granulose dikarakteristikkan dengan terdapatnya granula dalam jumlah yang besar di sitoplasma. Sel berperan dalam menghasilkan, menyimpan dan mensekresi senyawa antimikroba. Sel granula tidak berperan dalam aktifitas fagositosis dan sedikit berperan dalam proses enkapsulasi. Fungsi utamanya adalah menghasilkan enzim Phenoloksidase yang memiliki peranan penting dalam system pertahanan. Aktivasi enzim ini juga dapat dilakukan dengan menggunakan komponen mikrobial seperti β -Glukan, peptidoglycan dan lipopolisakarida melalui ikatan protein spesifik dengan permukaan hemosit (Sritinyaluckasana *et al.*, 1999;; Vetrica dan Sima, 2004). Hemosit disintesis oleh jaringan hemotopoietic yang merupakan sepasang epigastric nodule. Produksi tersebut dilakukan untuk mencapai keadaan homeostatic pasca introduksi imunostimulan. Jaringan tersebut terletak tepat di bagian dorsal pada lambung bagian depan (anterior stomach) merupakan tempat sintesis hemocyanin (protein darah)(Efendi *et al.*, 2004)

Peranan Anion Superoksida dalam system Imun Udang

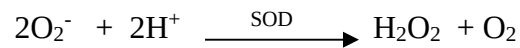
Dalam proses fagositosis yang dilakukan oleh sel hyaline, akan disertai dengan metabolisme berupa letupan atau lonjakan respirasi (respiratory burst). Dalam peristiwa letupan tersebut akan terjadi kenaikan konsumsi oksigen, pembentukan reaktif oksigen intermediate (ROIs), yaitu radikal bebas seperti anion superoxide (O_2^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), hidroksi radikal (OH) dan singlet oksigen (1O_2) serta membentuk enzim-enzim degradasi

Didalam membran hyaline terdapat rantai transfer electron yang mengandung NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) oksidase, yang merupakan suatu system kompleks terdiri dari flavoprotein. NADPH oksidase aktif apabila ada kontak antara membran hyaline dengan partikel (Abbas *et al.*, 2000)

Kegiatan metabolisme ini menghasilkan kelebihan NADPH, yang pada gilirannya NADPH oksidase tereduksi akan mengubah oksigen menjadi anion superoksida



Anion superoksida adalah radikal bebas yang dihasilkan oleh reduksi sebuah electron dari molekul oksigen yang sangat reaktif dan dapat merusak sel mikroorganisme. Anion superoksida mengalami dismutase dengan katalisator enzim *superoxide dismutase* (SOD) sehingga terbentuk hydrogen peroksida (H_2O_2)



Pada udang windu normal level anion superoksida berada pada kisaran 25-30 unit dan berhubungan dengan proses fagositosis. Peningkatan jumlah hemosit pada udang akan diikuti pula dengan peningkatan jumlah anion superoksida dan hydrogen peroksida yang pada akhirnya akan meningkatkan kekebalan udang pada penyakit.

Kelompok reactive oxygen ini dihasilkan di vakuola fagositosis dan ketika dikeluarkan tidak tertutup kemungkinan dapat merusak sel host. Untuk mencegah kerusakan tersebut, sel maupun organisme menggunakan tiga strategi pertahanan. Pertama adalah dengan melibatkan antioksidan dengan berat molekul rendah antara lain ascorbate, α -tocopherol dan glutathione yang langsung berinteraksi dengan ROS untuk menetralkan. Dua pertahanan yang lain adalah melibatkan enzim yang berperan dalam metabolisme ROS (SOD), katalase dan glutathione peroxidase) atau memperbaiki kerusakan makromolekul menjadi asam nukleat, protein dan lemak (enzim perbaikan DNA, protease dan lipase) yang disebabkan oleh ROS (Holmblad dan Söserhall, 1999).

2.5.2. Peranan Enzim Protease dalam Sistem Imun Udang.

Protease adalah enzim yang berperan dalam proses proteolisis dimana proses katabolismenya terjadi dengan cara menghidrolisis ikatan peptide yang menghubungkan asam-asam amino dalam rantai polipeptida. Protease dapat diklasifikasikan dalam 6 kelompok yaitu serine, threonine, cysteine, asam aspartat, metalloprotease dan asam glutamate.

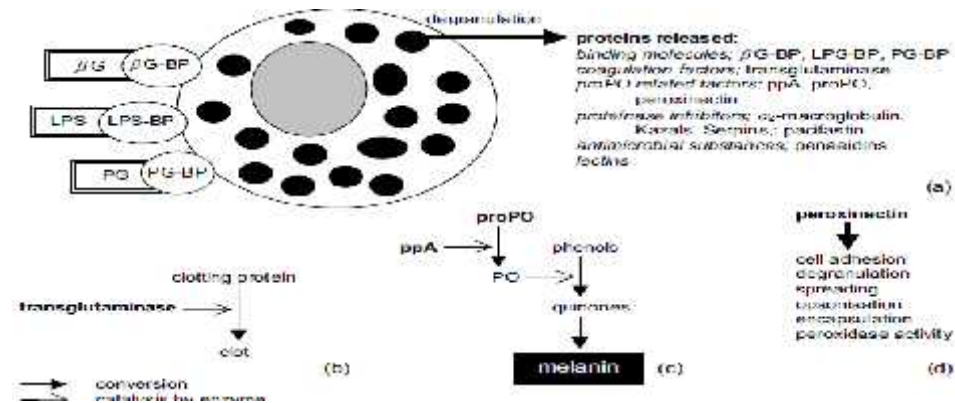
Protease terdapat secara alami pada setiap organism dengan persentase 1-5% dari kandungan gen. Enzim ini berperan dalam berbagai reaksi fisiologi mulai

dari yang sederhana seperti pencernaan makanan berprotein hingga yang kompleks seperti penggumpalan darah, apoptosis dan aktivasi prophenoloksidase (ppA) yang berperan dalam aktivasi Prophenoloksidase menjadi enzim Phenoloksidase ini selanjutnya berperan sebagai katalisator proses oksidase fenol menjadi quinon dan akan terpolimerisasi menjadi melanin. Melanin merupakan senyawa antimikroba yang akan membunuh pathogen yang masuk ke dalam tubuh udang (Van De Braak 2002)

Protease bersama-sama dengan enzim lysozime, esterase, fosfatase, fosfolipase dan feroksidase, adalah enzim-enzim lysosomal yang memiliki molekul cytotoksis yang mampu membunuh pathogen saat terjadinya infeksi penyakit. Secara bersama-sama, enzim-enzim ini berperan dalam system imun udang.

Telah diketahui bahwa reaksi pertahanan pada beberapa invertebrate sering dikaitkan dengan melanisasi. Pada Artropoda sistesis melanin terlibat dalam proses penyembuhan luka pada kutikula seperti halnya pada reaksi pertahanan melawan mikroorganisme yang menyerang masuk ke dalam peredaran darah. Enzim yang terlibat dalam pembentukan melanin adalah phenoloksidase dan telah dideteksi pada hemolim arthropoda (Soderhall dan Cerenius, 1998) Phenoloksidase (PO) adalah enzim yang mengandung copper dan memiliki dua fungsi yang dapat mengkatalis o-hidroksilase monofenol dan oksidase fenol menjadi quinon. Selanjutnya enzim ini dapat mengubah tirosin menjadi DOPA (Dihydroxyphenyl Alanin), seperti DOPA menjadi DOPA quinon, diikuti beberapa tahap intermedit yang dapat menyebabkan sistesis melanin yang berwarna coklat. PO adalah enzim terminal dan sistem proPO, yaitu system pengenalan bahan asing yang terdapat pada arthropoda dan invertebrate lainnya. Aktivasi proPO memerlukan jumlah yang rendah dari komponen dinding sel mikroorganisme LPS, β -1-3-glucan atau peptidoglucan (PG). Hasil dari produksi pigmen melanin selalu dapat dilihat sebagai titik coklat gelap pada cutikula.

Gambaran secara skematik dari beberapa factor penting dalam system pertahanan pada krustase yang diperantarai hemosit dapat dilihat pada gambar 2.



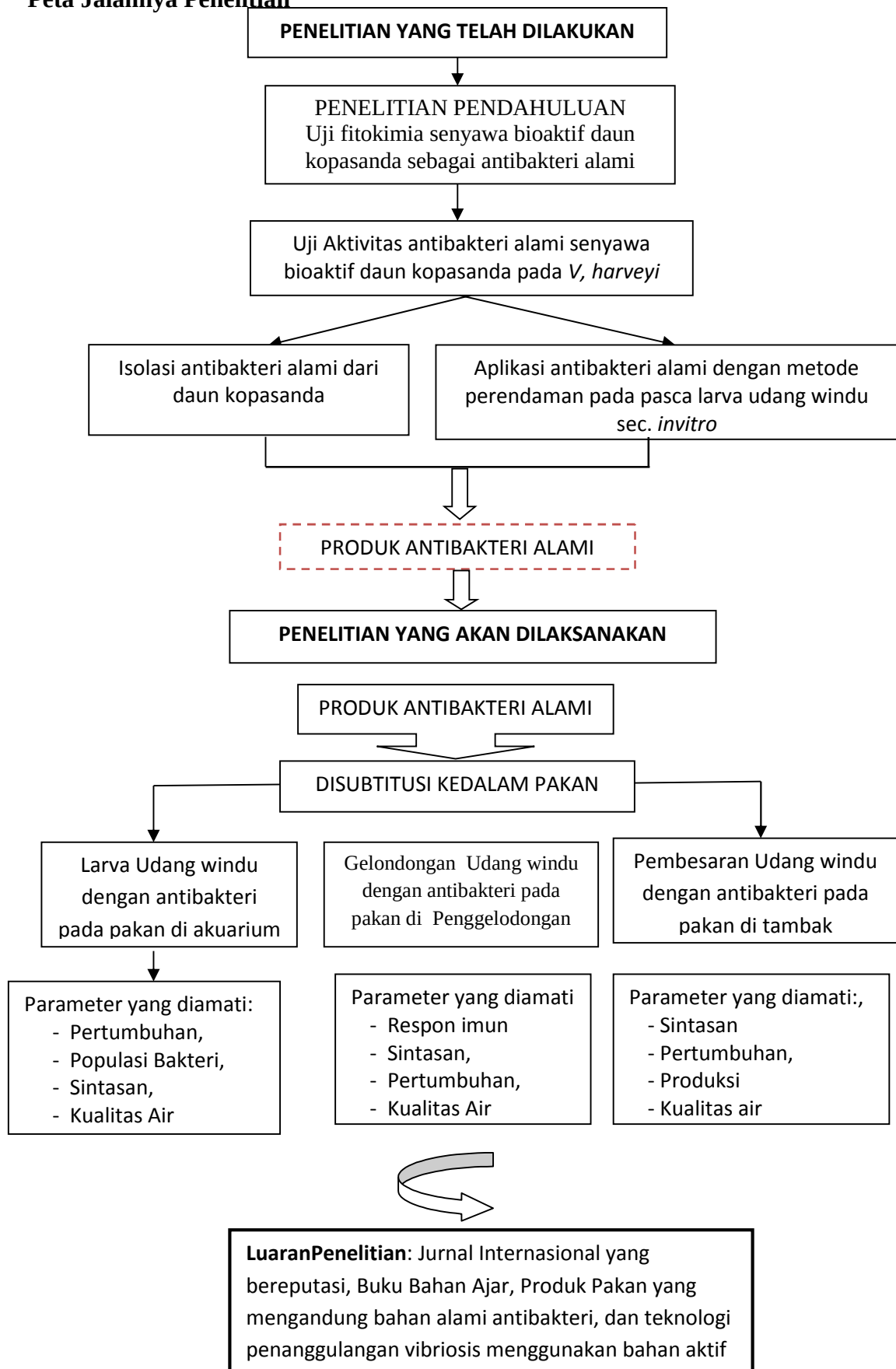
Gambar 2 Gambaran secara Skematik dari beberapa Faktor Penting dalam Sistem Pertahanan Crustacea

Keterangan:

Pola protein pengenalan yang berbeda dalam hemolim mengenali dan berikatan dengan komponen dinding sel mikroorganisme, selanjutnya menginduksi ikatan seluler dan hemosit mengalami degranulasi dan melepaskan protein yang berbeda yaitu: pro-enzim dan substrat. (a); protein yang terlibat dalam penggumpalan, (b); Pengaktifan proPO, (c); system atau proses aktivasi selular lainnya, (d) Protein yang terlibat dalam proses yang dikeluarkan oleh hemosit ditandai dengan cetak tebal. Pengaktifan dari proses yang berurutan diatur oleh proteinase inhibitor yang berbeda

Peroksinektin merupakan factor imun yang terlibat dalam aktivasi system proPO. Pertama kali diidentifikasi pada hemocyte lysate supernatant (HLS) Crayfish *P. leniusculus* dengan berat molekul 76 kDA (Johansson dan Soderhall 1988). Sedangkan pada *Penaeus monodon* Fab. Mempunyai berat molekul 80 kDA (Sritunyaluccksana, 2001). Peroksinektin disintesis dalam bentuk inaktif, dilepaskan dalam respon terhadap stimulus, dan diaktifkan di luar sel untuk memerantarai perlekatan dan penyebaran hemosit. Peroksinektin adalah protein multi fungsional yang mengandung 5 aktifitas biologi yang berbeda; (a) aktifitas adhesi sel; (b) aktifitas degranulasi; (c) aktifitas encapsulasi; (aktifitas opsonik dan (e) aktifitas peroksidase. *Extracellular superoxide dismutase* (EC-SOD) berfungsi sebagai reseptor untuk peroksinektin dan H_2O_2 yang dihasilkan SOD dan sebagai akibatnya substansi toksik tersebut dapat diproduksi berdekatan dengan mikroorganisme yang menyerang.

Peta Jalannya Penelitian



BAB III METODE PENELITIAN

Penelitian Tahun III. Aplikasi Pakan Berkopasanda pada Pembesaran udang windu di Tambak

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian Aplikasi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda ini dilaksanakan di Tambak Rakyat di Kabupaten Pangkep. Persiapan pakan uji dilakukan di Laboratorium Nutrisi BPPBAP Maros. Keseluruhan rangkaian kegiatan penelitian ini berlangsung dari bulan Maret sampai September 2018.

3.2 Prosedur Penelitian

Persiapan Wadah Penelitian

Penelitian ini menggunakan 4 petakan tambak yang sebelumnya dilakukan persiapan lahan meliputi pengeringan, pemberantasan hama, pembilasan dan pemupukan. Pemberantasan hama dilakukan dengan menggunakan saponin 15-30 ppm (15-30 kg) saponin per tambak dengan kedalaman air sekitar 10 cm) dan kaporit 2-3 ppm (2-3 kg kaporit per hektar tambak dengan kedalaman air sekitar 10 cm) (KKP, 2013). pembilasan petak tambak dan pengapuran. pengapuran dilakukan dengan menggunakan kapur bakar (CaO) dengan dosis antara 1-5 ton per hektar tambak. Selanjutnya dilakukan pemupukan menggunakan pupuk organik komersial sebanyak 80 kg, pupuk Urea dan TSP masing-masing sebanyak 50 kg dan 25 kg. Setelah itu dilakukan pengisian air dalam petakan tambak dengan ketinggian air 100 cm.

Persiapan Pakan Uji

Bahan baku pakan yang digunakan terdiri dari bahan baku hewani yaitu ikan kering dan kepala udang, dan bahan baku nabati yaitu kedelai, jagung, bungkil kopra dan daun kopasanda. Ikan kering dikeringkan di bawah sinar matahari ataupun di dalam open, setelah itu ditepungkan dengan menggunakan saringan kasar yang berdiameter 5 mm, selanjutnya dikeringkan lagi dan ditepungkan lagi dengan menggunakan saringan yang berdiameter 0,5 mm, hasil penepungan inilah yang digunakan didalam pakan. Selanjutnya kepala udang

dikukus selama 10 menit , selanjutnya dikeringkan setelah kering ditepungkan. Proses penepungan sama dengan proses penepungan tepung ikan.

Kedelai dan jangung terlebih dahulu rendam selama kurang lebih 8 jam, kemudian dikukus selama 20 menit, lalu dihancurkan dengan menggunakan mesin pencetak pellet. Selanjutnya dikeringkan di dalam open setelah kering ditepungkan, proses penepungan sama dengan proses penepungan ikan dan kepala udang.

Daun kopasanda yang diperoleh langsung dikeringkan di dalam open, setelah kering langsung ditepungkan dengan menggunakan saringan halus berdiameter 0,5 mm atau bisa juga diblender. Proses pengolahannya jauh lebih muda dibandingkan dengan dengan bahan baku lainnya.

Prosedur pembuatan pakan uji

Bahan yang akan digunakan sudah dalam bantuk tepung, maka dilakukan penimbangan sesuai dengan kebutuhan yang telah ditentukan didalam formulasi pakan. Masing-masing bahan yang telah ditimbang dicampur dalam baskom, sistem pencampuran dilakukan terlebih dahulu pada bahan baku yang jumlahnya paling kecil selanjutnya diikuti pada bahan yang lebih besar. menggunakan mikser sampai homogen. Setelah homogen, maka dilakukan penambahan air panas yang telah mendidih sebanyak 40-50% sedikit demi-sedikit sambil diaduk sampai airnya merata. Setelah homogen bahan tersebut dicetak dengan menggunakan mesin pencetak pellet, ukuran pellet yang diinginkan bisa disesuaikan dengan menggunakan ukuran dise pencetak pelletnya. Setelah pellet dicetak langsung dijemur dibawah sinar matahari ataupun di open sampai kering (kadar airnya $\pm 8-6\%$). Setelah kering pakan tersebut disimpan di tempat yang suhunya bisa konstan.

Kualitas pakan secara fisik sangat ditentukan oleh tekstur bahan, semakin halus bahan baku maka semakin baik kualitas fisik pakan. Bahan dan komposisi pakan yang digunakan adalah komposisi yang terbaik yang dihasilkan dari penelitian tahun kedua yang disajikan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Bahan baku dan komposisi pakan yang digunakan dalam penelitian (% berat kering)

No	Jenis bahan	Persentase
1.	Tepung ikan	40
2.	Tepung kepala udang	10
3.	Bungkil kopra	9
4.	Tepung jagung	12
5.	Tepung kedelai	17
6.	Tepung terigu	10
7.	Vitamin dan mineral	2
8.	Daun kopasanda (mg/kg pakan)	1500
	Total	100
	Hasil uji Proksimat	
1.	protein kasar (%)	38,21
2.	lemak kasar (%)	9,27
3.	serat kasar (%)	4,52
4.	kadar abu (%)	12,48
5.	NFE (%)	32,86
	Energi total (Kcal/kg pakan)	1646

Pembuatan Pakan Uji

Sebanyak 1 kg daun kopasanda kering dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian ditimbang sesuai dengan perlakuan dan dicampurkan ke dalam pakan udang windu yang telah diformulasi. Pakan yang telah diformulasi dan ditambahkan bahan alami daun kopasanda sesuai konsentrasi hasil penelitian tahun kedua diaduk hingga homogen. Setelah homogen dituang ke dalam wadah, ditambahkan air sebanyak 40 % diaduk hingga rata, lalu dilakukan pencetakan dengan menggunakan mesin pencetak pakan.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang akan digunakan berupa tokolan udang windu (*P.monodon*) bebas WSSV berdasarkan hasil pemeriksaan PCR dengan kepadatan 8 ekor/m² dengan bobot rata-rata 0,1- 0,2 g dan panjang rata-rata 2,00-2,5 cm, Sebelum benur ditebar terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi terhadap suhu dengan cara mengapung-apungkan kantong yang berisi benur di tambak dan

menyiram dengan perlahan-lahan. Tindakan tersebut dilakukan hingga suhu air dalam kemasan plastik mendekati atau sama dengan suhu air di petakan yang dicirikan dengan munculnya embun di dalam plastik kemasan. Aklimatisasi terhadap salinitas dilakukan dengan membuka kantong dan diberi air tambak sedikit demi sedikit selama kurang lebih 30 menit. Pemberian pakan uji sebesar 50% dari biomas total/hari pada awal penebaran dan menurun hingga 2% dari biomas total/hari pada minggu terakhir. Lama pemeliharaan 4 bulan.

Pakan yang diaplikasikan adalah konsentrasi bahan alami terbaik dari Hasil Penelitian Tahun ke dua. Perlakuan tersebut adalah Pakan formulasi dengan bahan alami daun kopasanda dengan konsentrasi 1500 ppm (mg/kg pakan)

3.3 Peubah yang diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini meliputi Pertumbuhan bobot mutlak, Sintasan udang windu, produksi dan kelayakan usaha budidaya udang windu serta pengamatan parameter fisika kimia air.

3.4 Analisis data

Pertumbuhan bobot mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak adalah perubahan atau pertambahan bobot udang yang dipelihara dalam satuan waktu. Pertumbuhan bobot mutlak udang uji dapat dihitung dengan menggunakan rumus menurut Effendi (1979) yaitu :

$$W_m = W_t - W_0$$

Keterangan :

- W_m : Pertumbuhan bobot mutlak (g)
- W_t : Bobot rata-rata udang pada akhir penelitian (g)
- W_0 : Bobot rata-rata udang pada awal penelitian (g)

Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup udang diamati dihitung dengan menggunakan rumus (Effendie, 1997) di bawah ini:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Sintasan (%)

Nt = Jumlah individu pada akhir penelitian (ekor)

No = Jumlah individu pada awal penelitian (ekor)

Populasi Bakteri

Perhitungan populasi bakteri menggunakan rumus Ganjar (1992) sebagai berikut:

$$N = \frac{T}{Q} \times \frac{1}{V} \times \frac{1}{S} (CFU/ml)$$

Keterangan:

N = Jumlah bakteri (CFU/mL)

T = Total koloni bakteri pada semua cawan petri dengan tingkat pengenceran yang sama (CFU)

Q = Jumlah cawan petri

V = Volume sampel yang diinokulasi (mL)

S = Tingkat pengenceran

3.5. Pengamatan Parameter Kimia-Fisika air

Pengamatan parameter kimia-fisika air dilakukan setiap hari meliputi salinitas, pH, oksigen terlarut,.Data tersebut dipergunakan sebagai penunjang kegiatan penelitian. Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan *hand refraktometer* (Atago S/mill –E–Japan). Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan portable pHmeter (Meter lab PHM 201,Radiometer Analytical, S.A., France). Pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter (YSI 58,Yellow Springs Instrumen co. Inc., USA). Sedangkan PO₄-P, NH₃-N, dilakukan dengan metode spektrofotometer.

3.6. Kelayakan Usaha Budidaya Udang Windu

Untuk mengetahui kelayakan usaha budidaya udang data dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan analisis R/C Ratio (Widya (2013). Analisis R/C Ratio merupakan metode analisis untuk mengukur kelayakan usaha dengan rasio penerimaan (revenue) dan biaya (cost), dengan rumus :

$$R/C = \frac{\text{Total Revenue (TR)}}{\text{Total Cost (TC)}}$$

$R/C > 1$, usaha menguntungkan atau layak dikembangkan

$R/C < 1$, usaha tidak menguntungkan atau tidak layak dikembangkan
 $R/C = 1$, usaha dalam keadaan impas (tidak untung dan tidak rugi)

Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data meliputi pengumpulan data primer dan data sekunder. Data primer diperoleh melalui observasi dan wawancara (Aedi, 2010, Musfiqon, 2012), sedangkan data sekunder didapatkan dari literature, laporan terdahulu dan jurnal (Hartono, 2014)

Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif, yaitu metode yang menggambarkan fakta atau karakteristik populasi tertentu secara actual dan cermat untuk mencari unsur-unsur, ciri-ciri, sifat atau permasalahan yang ada (Nasir, 2003; Suyastiri 2008; Sugiono, 2010 dan Suryano, 2010). Data disajikan dalam bentuk table dan grafik

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Kegiatan penelitian aplikasi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda (Immunosanda) telah dilakukan yang dimulai pada bulan Maret hingga September 2018. Penelitian budidaya udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) dilakukan dengan menggunakan 4 tambak (3 tambak sebagai tambak uji coba aplikasi pakan berkopasanda dan 1 tambak sebagai kontrol). Uji coba aplikasi pakan ini dilakukan di tambak rakyat di desa Bonto Langkasa Kab. Pangkep. Kegiatan budidaya udang windu di tambak pembesaran diawali dengan pembuatan pakan hasil dari penelitian tahun ke dua yang akan diaplikasikan dalam kegiatan penelitian tahun ketiga ini.

Tahapan kegiatan budidaya pembesaran udang windu dengan aplikasi pakan berkopasanda persiapan tambak penggelondongan, persiapan tambak pembesaran, penebaran benur dan aklimatisasi, monitoring penggunaan pakan, monitoring kualitas air dan pemanenan.

Kegiatan persiapan tambak merupakan kegiatan awal yang sangat menentukan keberhasilan kegiatan budidaya. Persiapan tambak meliputi perbaikan tanah dasar dengan melakukan perbaikan pematang tambak dan pengolahan lahan meliputi pemberantasan hama, pengapuran dan pemupukan.. Setelah tambak siap digunakan dilakukan penebaran benur. Benur yang digunakan adalah benur hasil penggelondongan yang dilakukan selama 2 minggu sehingga diperoleh dari hasil seleksi benur gelondongan udang windu dengan ukuran pl 20 dengan berat awal 0,0185 gram dan panjang 1,7 mm. Menurut Haryanti *et. al.*, (2003) ; Kordi dan Tancung, (2007) ciri benur udang yang bagus diantaranya ukurannya seragam, panjang > dari 6 mm, aktif berenang secara menyebar dan melawan arus, ubuh bening transparan serta terbebas dari infeksi virus dan bakteri.

Selanjutnya penebaran benur dilakukan pada saat pagi hari untuk menghindari suhu yang terlalu tinggi yang dapat mengakibatkan stres pada benur udang windu. Sebelum benur ditebar dilakukan adaptasi benur terhadap kondisi lingkungan budidaya dengan cara meletakkan plastik berisi benur ke atas air tambak yang berlangsung sekitar 15-20 menit. Kemudian air dimasukkan

secara perlahan kedalam kantong benur selanjutnya dilepaskan ke dalam tambak

Tahapan selanjutnya yang dilakukan adalah pemberian pakan. Prinsip pemberian pakan adalah 5 % dari berat badan udang setiap hari. Pada masa penggelondongan pakan yang diberikan adalah tepung ikan pellet yang mengandung daun kopasanda hingga umurbenur mencapai 2 minggu dengan intensitas pemberian pakan 2 kali untuk PL 1-15,4 kali untuk PL 16-70, dan 5 kali untuk PL 71-120 setiap harinya. Apabila pada saat pengecekan anco pakan didapati pakan habis maka dilakukan penambahan pakan 5 %, tetapi jika sebaliknya dilakukan pengurangan pakan. Selama masa pemeliharaan dilakukan pengukuran kualitas air secara kontinyu yang dilakukan setiap hari/ minggu yang disajikan pada Tabel 4.1. Tahapan terakhir dalam kegiatan penelitian ini adalah kegiatan pemanenan. Pemanenan dilakukan saat berat udang mencapai ukuran konsumsi (Arsad *et al.*, 2017).

Secara detail data budidaya udang windu selama penelitian disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Detail Data Budidaya Udang Windu di Masing-Masing Petakan

Parameter	Tambak			
	Area Tambak			
	1	2	3	4 (Kontrol)
Luas Tambak (Ha)	0,5	0,4	0,4	0,5
Jumlah Tebar Awal (ekor)	50.000	40.000	40.000	50.000
Padar Tebar (ekor/m ²)	10	10	10	10
Total Pakan (kg)	1.602	1.306	1.297	323
FCR	1,7	1,75	1,69	1,9
Kelangsungan hidup (%)	75	76	75	40
Rata-rata berat Awal (grn/ekor)	0,019	0,019	0,019	0,019
Rata-rata Berat akhir (grm/ekor)	24.33	24.46	24.61	6,5
Produksi (kg)	942,37	746,32	768,00	170,00
Periode Budidaya (hari)	120	120	120	120

Pertumbuhan Udang Windu

Pertumbuhan pada udang terjadi melalui molting, oleh sebab itu pertumbuhan merupakan fungsi dari frekuensi molting dan peningkatan ukuran

pada masing-masing molting (Wickins dan Lee, 2002). Pertumbuhan dapat dilihat dari bertambahnya ukuran dan bobot udang mengalami molting (ganti kulit). Pertumbuhan udang saat masih muda lebih cepat dibandingkan fase lainnya (Razi, 2013). Hal ini tentu akan menghabiskan waktu pemeliharaan yang lama pula, sehingga pakan yang diberikan semakin tinggi, tenaga kerja yang tinggi dan biaya operasional juga menjadi semakin tinggi (Djunaedi *et al.*, 2015).

Molting terjadi karena tubuh krustase dibungkus oleh cangkang keras (eksoskeleton). Cangkang atau kutikula tersusun oleh kitin (nitrogenous polysaccharide chitin) dan menjadi keras akibat deposisi kalsium. Kutikula krustase tersusun atas dua lapisan utama dari luar ke dalam masing-masing adalah epikutikula dan prokutikula. Epikutikula terdiri atas material protein dan lipid, sedangkan prokutikula terdiri atas tiga sub lapisan yakni eksokutikula, endokutikula, dan lapisan membranous. Epikutikula dan eksokutikula disintesis dan dibentuk sebelum ekdisis sedangkan endokutikula dan lapisan membran disintesis dan dibentuk setelah ekdisis (Jurenka, 2013).

Tingkat pertumbuhan dan kelangsungan yang tinggi merupakan harapan bagi pengelola budidaya udang windu, karena dengan pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang tinggi akan didapatkan produksi pada saat panen yang maksimal. Selain itu dengan berat udang yang dihasilkan maksimal akan menambah keuntungan dalam pemasaran (Arsad *et al.*, 2017). Olehnya itu dalam kegiatan budidaya, guna mencegah serang penyakit yang biasanya muncul pada saat kegiatan budidaya udang windu perlu diimbangi dengan penggunaan pakan yang mengandung bahan alami sebagai upaya pencegahan serangan penyakit. Selama ini permasalahan utama dalam budidaya udang adalah masalah tingginya harga pakan dan tingginya kematian udang karena serangan penyakit. dapat diatasi dengan pembuatan pakan organik yang mengandung antibakteri alami dari daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.). Pembuatan pakan organik yang mengandung anti bakteri alami diproduksi secara mandiri dengan teknologi sederhana. Daun kopasanda ini dicampurkan ke dalam pakan organik sebagai sumber antibakteri alami dengan tujuan dapat berperan

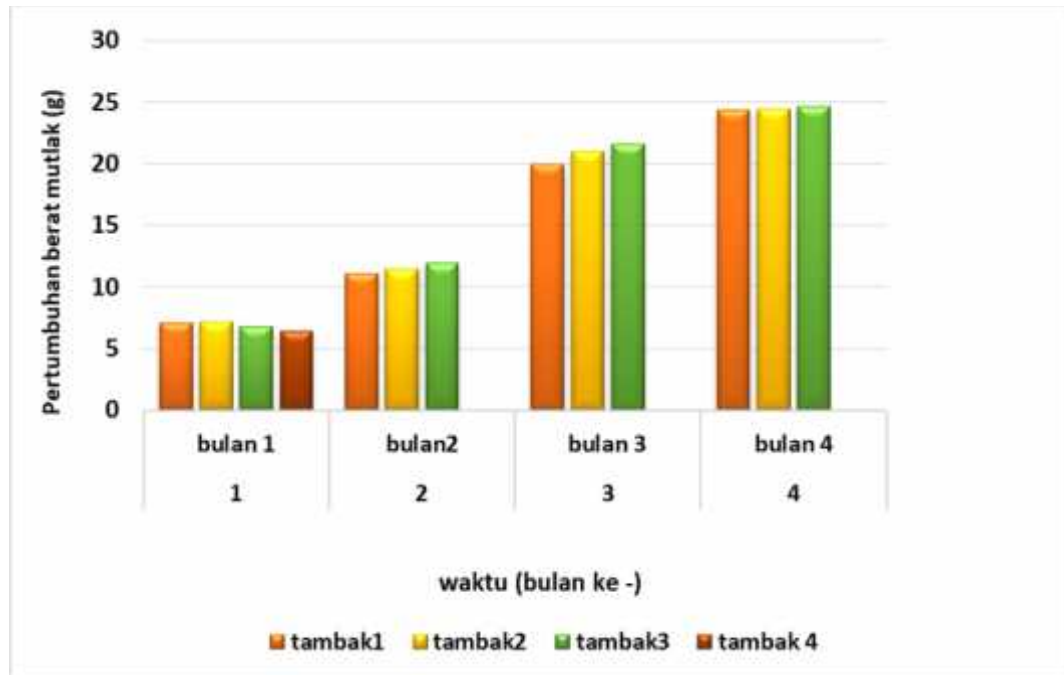
sebagai imunostimulan^{[5],[6],[7][8]}, sebagai alternatif pengganti penggunaan antibiotik dalam pencegahan penyakit bakterial.

Pada Tabel 1 menunjukkan detail data tambak yang digunakan. Pada table tersebut juga menunjukkan performa pertumbuhan udang windu yang dipelihara dengan aplikasi pakan berkopasanda. Rata-rata berat udang (gr/ekor) setiap bulannya pada setiap petakan tambak disajikan pada Tabel 4.2 dan Grafik 4.1

Tabel 4.2 Rata-Rata Berat Udang (gr/ekor) setiap Bulan

Tambak Percobaan	Rata-Rata Berat Udang Windu (gr/ekor)				
	Berat Awal	Bulan 1	Bulan 2	Bulan 3	Bulan 4
Tambak 1	0.019	07,10	11,06	19,95	24,33
Tambak 2	0,019	07,13	11,48	21,00	24.46
Tambak 3	0,019	06,75	11,97	21,59	24,61
Tambak 4	0,019	06,46	-		

Pada Tabel 2 terlihat bahwa berat rata-rata udang mengalami peningkatan sejaan dengan bertambahnya lama pemeliharaan. Tambak 1,2 dan 3 yang diaplikasikan pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda hingga panen mencapai berat dengan kisaran 24,33 – 24,61. Sedangkan petakan Tambak 4 yang tanpa aplikasi pakan berkopasanda hanya mencapai berat 6,46 karena mengalami kematian setelah 1 bulan pemeliharaan.



Grafik 4.1. Hubungan waktu pengamatan dengan Pertumbuhan Berat Mutlak Udang windu

Sedangkan Rata berat udang pada setiap petakan pada akhir penelitian disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Pertumbuhan mutlak selama penelitian

Parameter pertumbuhan (gr/ekor)	Tambak 1	Tambak 2	Tambak 3	Tambak 4
Rata-rata berat Awal	0,019	0,019	0,019	0,019
Rata-rata Berat akhir	24.33	24.46	24.61	6,50
Pertumbuhan Mutlak	24,63	24,53	25,58	6,48

Dari Tabel 4.3 terlihat bahwa tambak 1,2 dan 3 pertumbuhan mutlak dari awal hingga akhir penelitian berkisar antara 20,67- 24,65 gr/ekor. Sedangkan pada tambak 4 hanya 6,48 gr/ekor karena mengalami kematian pada bulan kedua pengamatan.

Kelangsungan Hidup Udang Windu

Pada Tabel 4.1 menunjukkan detail data tambak yang digunakan. Pada table tersebut juga menunjukkan performa tingkat kelangsungan hidup udang windu yang dipelihara dengan aplikasi pakan berkopasanda.

Tingkat kelulusan hidup udang windu yang dipelihara dengan periode pemeliharaan 120 hari pada petakan tambak 1, 2 dan 3 dengan aplikasi pakan berkopasanda menunjukkan tingkat kelangsungan hidup diatas 70 %, dengan pertumbuhan udang mencapai kisaran 20-24,61 gram/ekor. Menurut Widagdo, (2013) Kelangsungan hidup udang dikategorikan baik apabila nilai $SR > 70\%$, untuk kategori sedang 50-60%, dan pada kategori rendah nilai kelangsungan hidup $<50-60\%$. Tingginya nilai kelangsungan hidup udang yang diperoleh selama periode pemeliharaannya menunjukkan bahwa penerapan aplikasi pakan yang mengandung anti bakteri membantu meningkatkan kelangsungan hidup udang.. Berbeda dengan hasil yang diperoleh pada tambak 4 (control), kegiatan budidaya yang dilakukan hanya mencapai periode budidaya 30 hari, hal ini diduga akibat serangan penyakit yang menyebabkan kematian massal udang windu.

Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Harlina *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa kelangsungan hidup gelondongan udang windu yang telah di pelihara selama 21 hari dan diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda lalu diinfeksi dengan *Vibrio harveyi* lebih tinggi dibanding kan dengan perlakuan yang diberi pakan tanpa bahan alami daun kopasanda. Hal ini dapat menjadi indikasi bahwa pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda memberi respon imun pada gelondongan udang windu. Ekstrak daun kopasanda mengandung senyawa bioaktif yang potensi digunakan sebagai anti bakteri alami yaitu flavonoid, alkaloid, steroid, saponin dan tannin. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri senyawa bioaktif daun kopasanda telah diketahui bahwa ekstrak daun kopasanda memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan merupakan kandidat yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif alami karena mampu menekan populasi *vibrio harveyi* penyebab penyakit vibriosis secara *in vitro* (Harlina, *et al.*, 2013). Lebih lanjut dijelaskan

bahwa Penggunaan senyawa bioaktif daun kopasanda sebagai produk antibakteri alami secara tidak langsung dapat meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup, meningkatkan resistensi terhadap penyakit dan dapat memodulasi parameter imun (Total Haemocyte Count (THC), Differential Haemocyte Count (DHC). Tanaman kopasanda berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat mencegah infeksi *Vibrio* spp. dengan jalan meningkatkan aktivitas fagositosis. Meningkatnya ketahanan tubuh dapat diketahui dari meningkatnya aktifitas sel-self fagosit dari hemosit. Sel-sel fagositik ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum mampu melindungi adanya serangan penyakit.

Peranan Bahan Alami daun Kopasanda (*Choromolaena odorata*) dalam Formula Pakan untuk meningkatkan Kelangsungan Hidup dan pertumbuhan udang windu melalui Peningkatan Respon Imun udang windu telah dilakukan (Harlina *et al.*, (2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan total hemosit yang lebih tinggi pada udang windu yang diberi pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dibanding dengan perlakuan pakan yang tidak mengandung bahan alami daun kopasanda (Kontrol). Total sel hemosit tertinggi ditemukan pada perlakuan pemberian pakan dengan konsentrasi ekstrak daun kopasanda 1500 ppm dengan jumlah hemosit sebesar $11,17 \pm 1,56 \times 10^6$ sel/ml). Total sel hemosit dapat dijadikan sebagai indikator tingkat kesehatan udang. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa penambahan bahan alami daun kopasanda sebanyak 1500 ppm ke dalam pakan benur gelondongan udang windu dapat berfungsi sebagai imunstimulan. sehingga dapat mencegah serangan *Vibrio harveyi* yang pada akhirnya dapat menekan laju mortalitas sehingga kelangsungan hidup gelondongan udang windu tinggi.

Sebagaimana diketahui bahwa sistem pertahanan tubuh pada krustace termasuk udang windu adalah pertahanan tubuh yang didominasi dilakukan oleh hemosit yang ada pada hemolim. Apabila ada patogen yang masuk dalam tubuh maka udang akan meningkatkan produksi hemolim. Di dalam hemolim akan terjadi aktifitas fagositosis oleh sel hialin dan semigranular, penghancuran

patogen oleh aktifitas phenoloksidase dan juga pengaktifan antibakteri oleh antimicrobial peptides (AMPs) seperti penaidins, crustin dan anti lipopoly saccharide factors (ALFs) (Tassanakajon *et al.*, 2011).

Hal ini disebabkan karena kondisi pakan yang diberikan mengandung kopasanda sebagai immunistimulan bagi udang, sehingga tahan terhadap serangan bakteri dari lingkungannya. Berbeda dengan tambak 4, tingkat pertumbuhan saat awal sampling mengalami kenaikan, namun menjelang satu bulan udang mengalami kematian yang di duga dari serangan bakteri, sehingga mengalami kematian secara massal (Tabel 2).

Rasio Konversi Pakan (FCR)

Konversi pakan / Feed Conversion Ratio adalah rasio (perbandingan) jumlah kilogram pakan yang dapat diubah menjadi satu kilogram daging, nilai konversi pakan akan rendah bila jumlah pakan yang di berikan lebih kecil bila pertambahan berat udang yang di hasilkan dan sebaliknya nilai konversi pakan akan tinggi apabila jumlah pakan yang di berikan lebih banyak di banding pertambahan berat udang (Yulfiperius, 2014).

Konversi pakan merupakan perbandingan antara jumlah pakan yang di berikan dengan jumlah berat udang yang di hasilkan, semakin kecil nilai konversi pakan berarti tingkat pemanfaatan pakan lebih efisien sebaliknya apabila konversi pakan lebih besar maka tingkat pemanfaatan pakan kurang efisien (Iskandar dan Elrifadah, 2015)

Menurut Hariati (1989), Bahwa tingkat efisiensi penggunaan pakan yang terbaik akan di capai pada nilai perhitungan konversi pakan terendah. Dimana pada perlakuan tersebut kondisi kualitas pakan lebih baik dari perlakuan yang lain. Kondisi kualitas pakan yang baik mengakibatkan energi yang di peroleh lebih banyak untuk pertumbuhan, sehingga dengan pemberian pakan yang sedikit diharapkan laju pertumbuhan meningkat.

Berdasarkan Tabel 1, terlihat bahwa rasio konversi ratio (FCR) dari tambak 1, 2, dan 3 berada pada kisaran 1,69-1,75 artinya lebih efisien dibandingkan dengan tambak 4. Hal ini mencerminkan bahwa dengan penambahan kopasanda ternyata dapat meningkatkan efisiensi pakan, hal ini

terlihat pada tambak 1, 2 dan 3. Selisih efisiensi pemberian pakan dengan pemberian kopasanda berkisar 0,21-0,15, jika dibandingkan dengan kontrol atau pakan tanpa kopasanda.

Analisis Kelayakan Usaha Budidaya Udang

Untuk mengetahui kelayakan usaha budidaya udang data dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan analisis R/C Ratio (Widya (2013)). Analisis R/C Ratio merupakan metode analisis untuk mengukur kelayakan usaha dengan rasio penerimaan (revenue) dan biaya (cost)

R/C Ratio merupakan suatu analisa pemilihan usaha yang biasa dilakukan karena mudah, yaitu perbandingan antara penerimaan dan biaya yang dikeluarkan. Jika nilainya kurang dari 1 maka usaha yang dilakukan tidak ekonomis, dan jika lebih dari satu berarti usaha ini layak untuk dikembangkan. Dan apabila R/C ratio=1 dikatakan usaha itu marginal (tidak rugi dan tidak untung).

Tabel 4.4. Analisis Kelayakan Usaha Budidaya Udang Windu

No	Uraian	Perlakuan A			Perlakuan B			Perlakuan C			Kontrol		
		jumlah unit	harga/satuan (Rp)	Jumlah harga (Rp)	jumlah unit	Harga/Satuan (Rp)	Jumlah harga (Rp)	jumlah unit	harga/satuan (Rp)	Jumlah harga (Rp)	jumlah unit	Harga/Satuan (Rp)	Jumlah harga (Rp)
1	Nener	50.000	47	2350000	40.000	47	1880000	40.000	47	1880000	50.000	47	2350000
2	Saponin	5	30000	150000	5	30000	150000	5	30000	150000	5	30000	150000
3	Pupuk Urea	100	1800	180000	100	1800	180000	100	1800	180000	100	1800	180000
4	Pupuk TSP	50	2000	100000	50	2000	100000	50	2000	100000	50	2000	100000
5	Pakan	1602	15000	24030000	1306	15000	19590000	1297	15000	19455000	323	15000	4845000
6	Total Cost			26810000			21900000			21765000			7625000
7	Total Penerimaan	942,37	150000	141355500	746,32	150000	111948000	786	150000	117900000	170	150000	25500000
8	Total Pendapatan			114545500			90048000			96135000			17815000
9	R/C- Ratio	5,27			5.12			5.41			3,34		

Dari tabel 4.3. di atas terlihat bahwa kelayakan usaha dari masing masing perlakuan adalah semua dalam kategori layak karena nilai R/C ratio lebih besar dari 1, namun dari hasil perhitungan bahwa perlakuan C lebih tinggi nilai R/C rasionya dibandingkan dengan perlakuan lainnya artinya jika kita mengorbankan satu satuan biaya, maka kita memperoleh keuntungan 5,41 kali dari jumlah biaya yang kita korbankan. Sehingga perlakuan c sangat layak untuk dikembangkan.

3.Kualitas air

Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal, tengah dan akhir percobaan dengan parameter suhu, salinitas, pH, dan oksigen terlarut, Alkalinitas Total Amoniak $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_2\text{-N}$ sebagaimana di sajikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 . Kualitas Air Media Pemeliharaan Udang Windu

No	Parameter	Tambak Percobaan			
		1	2	3	4
1.	Suhu (°C)	26,7-28,0	26,7-28,1	26,7-28,7	26,8-28,5
2.	Salinitas (‰)	10,5-15,6	10,2-16,1	10,4-15,7	10,3-16,2
3.	pH	8,1-8,5	8,1-8,6	8,1-8,5	7,9-8,4
4.	O ₂ (ppm)	4,6-5,6	4,5-5,41	4,1-5,34	5,3-5,61
5.	BOT (mg/L)	24,40	30,65	25,02	20,02
6.	AlkalinitasTotal (mg/L)	88,44	92,46	88,44	88,44
7.	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/L)	0,2717	0,1953	0,2238	0,2619
8.	$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/L)	0,0802	0,0307	0,0011	0,2535
9.	$\text{NH}_2\text{-N}$ (mg/L)	0,0053	0,0171	<0,0010	0,0060

Dari data kualitas air yang didapatkan pada Tabel 4.4 terlihat bahwa faktor-faktor kualitas air sebagai media kehidupan pascalarva udang pada saat penelitian berlangsung secara umum berada pada kondisi yang optimal untuk pertumbuhan pascalarva udang windu. Ini menunjukkan bahwa kualitas air tidak berpengaruh terhadap kematian udang windu, sehingga kematian udang windu semata-mata hanya disebabkan oleh faktor pemberian senyawa bioaktif daun kopasanda.

Udang windu, merupakan organisme eurihalin, kisaran salinitas yang optimum perlu dipertahankan. Udang windu mampu menyesuaikan diri terhadap salinitas 3-45 ppt, namun untuk pertumbuhan optimum diperlukan salinitas 15-25 ppt (Jang *et al.*, 2013). Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai salinitas selama periode pemeliharaan berkisar 10,2-16,1. Nilai pH yang diobservasi selama periode pemeliharaan pasca larva berkisar antara 7,9-8,6. Kisaran pH yang baik untuk pertumbuhan udang windu *P. monodon* adalah 7,5-8,7 dengan pH optimum 8,0-8,5 (Jang *et al.* 2013). Derajat keasaman (pH) adalah salah satu karakteristik lingkungan yang vital untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan budidaya udang. Menurut Suprpto (2005) bahwa kondisi pH air yang optimal untuk budidaya vaname berkisar 7,3 – 8,5 dengan toleransi 6,5 – 9. Wyban dan Sweeny (1991) mengemukakan bahwa kisaran pH air yang cocok untuk budidaya udang windu secara intensif sebesar 7,4 – 8,9 dengan nilai optimum 8,0. Tabel 3 juga memperlihatkan suhu pemeliharaan air berkisar antara 26,71-26,82 °C. Pertumbuhan yang optimum *P. monodon* suhu seharusnya berkisar antara 25-31°C dan oksigen terlarut berkisar antara 4-8 mg/mL. Pada penelitian ini diperoleh oksigen terlarut berada pada kisaran yang optimum untuk pertumbuhan udang windu *P. monodon* yaitu sebesar 5,34-5,65 ppm. Berdasarkan nilai kisaran parameter kualitas air selama penelitian berada pada kisaran yang layak untuk kehidupan pasca larva udang windu

Kandungan oksigen terlarut (DO) dalam air merupakan faktor kritis bagi kesehatan udang. Hasil pengukuran oksigen terlarut selama pemeliharaan udang vaname berkisar antara 5,34-5,65—10,6 mg/L. Kondisi ini juga yang mengakibatkan sintasan udang berkisar 75—78 %. Oksigen terlarut menjadi salah satu peubah kualitas air yang sangat penting untuk menopang kehidupan udang. Oleh karena itu sistem aerasi merupakan suatu hal yang terpenting dalam sistem produksi udang sebagai pemasok oksigen terlarut dalam air tambak untuk kehidupan udang dan mendukung proses dekomposisi aerobik bahan organik dan nitrifikasi oleh bakteri.

Menurut Clifford (1998) bahwa level DO minimum untuk kesehatan udang 3,0 mg/L dan DO yang potensial menyebabkan kematian adalah < 2,0 mg/L. Suprpto (2005) berpendapat bahwa nilai DO optimal untuk budidaya vaname > 3

mg/L dengan toleransi 2 mg/L. Haliman dan Adijaya (2005) mengemukakan bahwa tanda-tanda sederhana terjadinya kekurangan oksigen yaitu udang berenang dipermukaan air atau berkumpul disekitar inlet air tambak. Upaya untuk meningkatkan angka DO dilakukan dengan pemakaian kincir air. Nilai DO minimal pada malam hari dianjurkan tidak kurang dari 3 mg/L.

Kisaran nilai Bahan Organik Total (BOT) yang diperoleh selama penelitian berkisar 24,6 – 30,65 mg/L, Nilai BOT yang diperoleh ini berada pada kisaran yang layak untuk budidaya udang windu. Budiardi (1998) mendapatkan nilai BOT di tambak Karawang berkisar 6,52 – 29,9 mg/L dengan rata-rata 22,47 mg/L dengan padat tebar benur 34 – 35 ekor/m². Adiwijaya *et al.* (2003) bahwa kisaran optimal bahan organik pada budidaya udang vaname < 55 mg/L.

Hasil pengamatan kandungan TAN pada media pemeliharaan udang windu berkisar 0,1953 – 0,2717 mg/L. Hari *et al.* (2004) mendapatkan kandungan TAN pada media pemeliharaan udang sistem indoor dengan perlakuan kandungan protein pakan 25% dan 40% tanpa bioflok diperoleh nilai TAN sebesar 4,7 dan 9,0 mg/L. sedangkan perlakuan protein pakan 25% dan 40% dengan bioflok diperoleh kandungan TAN sebesar 3,1 dan 3,7 mg/L. Menurut Crab *et al.*, (2007) bahwa TAN bersifat toksik terhadap udang pada tingkat konsentrasi yang tinggi, batas maksimum konsentrasi TAN di perairan adalah 1,5 mg N/L. Penelitian yang dilakukan oleh Avnimelech (1999) menunjukkan adanya efek penambahan karbohidrat terhadap TAN. Dimana terjadi penurunan akumulasi TAN dengan penambahan glukosa sebagai sumber karbon. Diasumsikan amonium nitrogen (TAN) pada perairan sekitar 10 mg/L dan konsentrasi glukosa yang ditambahkan 20 kali lebih tinggi dari TAN atau untuk mereduksi konsentrasi total amonium nitrogen (TAN) dengan 1 ppm N (1 g N/m³) dibutuhkan sumber karbon sebesar 20 g/m³, didapatkan bahwa semua amonium hilang setelah 2 jam.

Kandungan nitrat yang diperoleh sekitar 0,0011- 0,0802 mg/L pada semua petakan, nilai ini tergolong tinggi. Menurut Effendi, (2000), Nitrat adalah bentuk nitrogen utama di perairan alami dan sangat diperlukan oleh pertumbuhan akuatik (algae), sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Kandungan nitrat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan algae di perairan adalah 0,2 – 0,9 mg/L dan

optimal pada kisaran 0,1 – 4,5 mg/L. Sementara Clifford (1994) mengemukakan bahwa konsentrasi nitrat yang optimal untuk udang vaname berkisar 0,4 – 0,8 mg/L.

Hasil pengamatan kandungan nitrit yang didapatkan berkisar <0,0010-0,0171 mg/L. Nitrit merupakan bentuk peralihan antara amonia dan nitrat melalui proses nitrifikasi, serta antara nitrat dan gas hidrogen melalui proses dinitrifikasi. Kisaran optimal nitrit untuk budidaya udang yakni 0,01 – 0,05 mg/L (Adiwijaya *et al.* (2003) ; Soemardjati dan Suriawan (2007). Menurut Suprpto (2005), kandungan nitrit yang dapat di toleransi oleh udang berkisar 0,1 – 1 mg/L. Haliman dan Adijaya (2005), kandungan nitrit yang baik untuk kehidupan udang windu adalah $\leq 0,1$ mg/L. Clifford (1994) mengemukakan bahwa kandungan nitrit yang optimal untuk budidaya udang vaname < 1.0 mg/L.

5.2. Luaran yang dicapai

Luaran yang direncanakan dan capaiannya disajikan pada tabel 4.6.berikut

Tabel 4.6 Luaran yang direncanakan dan capaiannya

No	Luaran yang direncanakan	Capaian
1.	Symposium Internasional	Sudah dilaksanakan Oral Presenter at international Symposium MarSave 2018 pada tgl 7 Agustus 2018 di Hotel Gammara Makassar (Sertifikat terlampir)
2.	Seminar Nasional	Telah dilaksanakan Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan V pada tanggal 7 Mei 2018 di Hotel harper Makassar (Sertifikat terlampir)
3.	Jurnal Internasional/ Nasional bereputasi	Final Decision:Accepted After Minor Revision
4	Prosiding International	Proses Revisi oleh Reviewer
4.	Produk yang dihasilkan	Metode
5.	HKI (Paten sederhana)	Buku “ Penyakit Bakterial pada Udang windu” Nomor Pencatatan Hak Cipta 000113316

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat diperoleh kesimpulan sementara sebagai berikut, bahwa pemberian pakan yang mengandung bahan alami daun kopasanda dapat meningkatkan pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup udang windu (*P. Monodon* Fabr.). tambak 1,2 dan 3 pertumbuhan mutlak dari awal hingga akhir penelitian berkisar antara 20,67- 24,65 gr/ekor dengan tingkat kelangsungan hidup diatas 70% dengan produksi diakhir penelitian berkisar 746,32 – 942,37kg Sedangkan pada tambak 4 hanya 8,48 gr/ekor, dengan kelangsungan hidup di bawah 40 % dengan total produksi 170 kg.. Selain itu penambahan kopasanda dalam pakan dapat meningkatkan efisiensi pakan, hal ini terlihat pada tambak 1, 2 dan 3. Selisih efisiensi pemberian pakan dengan pemberian kopasanda berkisar 0,21-0,15, jika dibandingkan dengan kontrol atau pakan tanpa kopasanda. Berdasarkan analisis kelayakan usaha budidaya udang dengan aplikasi bahan alami daun kopasanda. adalah semua dalam kategori layak karena nilai R/C ratio lebih besar dari 1

Saran

Masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut terkait dengan aplikasi bahan alami daun kopasanda yang diaplikasikan dengan pakan, perlukan informasi frekuensi pemberian pakan berkopasanda yang lebih optimal dalam meningkatkan kelangsungan hidup udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Akinmoladun, A.C., E.O.IbokunandI.A. Dan-Ologe. 2007. Phytochemical constituents and anti oxidant properties of extracts from the leavesof *Chromolaena odorata*. Scientific Research and Essay Vol. 2 (6), pp. 191-194
- Anderson dan Siwicki, A.K. 1993. Basic haematology and serology for fish health program. Paper Presented. In second symposium on disease in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the enviroment" Phuket, Thailand. 25-29th October 1993.
- Battison, A., Cawthorn, R. & Horney B. 2003. Classification of *Homarus americanus* hemocytes and the use of differential hemocyte counts in lobsters infected with *Aerococcus viridans* var. *homari* (Gaffkaemia). *Journal of Invertebrate Pathology*, 84:177-197.
- Blaxhall, P. And Daishley,K. 1973. Some Blood parameters of the Rainbow Trout. The Kamloops variety. *J. Fish. Biol.*5:1-8
- Braak, K. Van den. 2002. Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (*Panaeus monodon*). PhD thesis, Wageningen University – with ref. – with summary in Dutch. Nedherlands. 159 pages
- Bourne,D.,L.Hj,N.Webster,M.Payne,M.Skinderse,M.GivskovandM.Hall,2007. Microbiological Aspects of Phyllosoma Rearing of the Ornate Rock Lobster *Panulirus ornatus*.*Aquaculture*, 268: 274-287
- Brown, J. H.1989. Antibiotics, their use and abusein aquaculture.*Aquaculture* 2:34-43.
- Diggles,B.K.,G.A.Moss,J.CarsonandC.D.Anderson,2000.Luminousvibrio sisinrock lobster *Jasus verreauxi* (Decapoda: Palinuridae) phyllosoma larvae associated with infection by *Vibrio*harveyi. *Dis. Aquat. Organ.*, 43:127-137
- Chen, T.T., 2000. Aquaculture biotechnology and fish disease. In: Hardjito, L. (Ed.). International Symposium.
- Djojosumarto,P.2012.Fungisidadan bakterisidayang berasaldalam. Artikel. <http://www.gerbangpertanian.com/2011/12/fungisida-dan-bakterisida-alami.html>. tgl akses 21 Maret 2012.

- Fitriyani E., S. Kusmardiyanti, I. Firdianny. 2007. Isolasi Suatu Flavonol dari Fraksi Etil Asetat Daun Kirinyuh (*Eupatorium pallescens* DC, Asteraceae). Skripsi. Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>
- Effendi, I. 1997 Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, and H. Nursyam, 2013. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Against Vibriosis-causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Tiger Prawn. *Aquatic Science and Technology*, 1(2), 15-29. <http://dx.doi.org/10.5296/ast.plii.3558>.
- Harlina, H., A. Prajitno, E. Suprayitno, H. Nursyam and Rosmiati 2015. Potential Study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *J. Aquac Res Development*, 6(10) <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000372>
- Harlina Kasnir, M., Rustam, Jayadi and Rosmiati, 2016. Isolation and Identification of Bioactive Compound of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf to Fight *Vibrio harveyi* on Post Larval Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius). *International Journal of Tropical Medicine* 11(4):92-97, 2016.
- Hanh, T. T. H., Hang, D. T. T., Van Minh, C., & Dat, N. T. (2011). Anti-inflammatory effects of fatty acids isolated from *Chromolaena odorata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10), 760–763 [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60189-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60189-2)
- Isnansetyo, A. T., E. P. Setyowati, and H. H., Anshory, 2009. *In vitro* Antibacterial Activity of Methanol Extract of a Sponge, *Geodia* sp. Against oxytetracycline-resistant *Vibrio harveyi* and its toxicity. *J. Biol. Sci* 9: 224-230.
- Johansson, M.W, P. Keyser, K. Sritunyaluksana & K. Soderhall. (2000). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191 : 45-92
- Kadriah, I.A.K. 2012. Analisis Keragaman Morfologi, Fisiologi dan Genetik serta Uji patogenitas Isolat-isolat *Vibrio* sp. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 127 hal.

- Kakoolaki, S., Soltani, M., Ebrahimzadeh, M.H.A., Sharifpour, I., Mirzargar, S., Afsharnasab, M. dan Motalebi, A.A. 2011. The effect of different salinities on mortality and histopathological changes of SPF imported *Litopenaeus vannamei*, experimentally exposed to white spot virus and a new defferential hemocyte staining method. *Iranian Journ. of Fisheries sciences*. hal. 10(3): 447 – 460.
- Liu C.H. and J.C. Chen. 2004. Effect of ammonia on the immune respons of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shelfish Immunology*. 16:321 – 334.
- Maftuch, Toban, M.H., & Risjani, Y. (2012). Administration of marine algae (*Gracillaria verrucosa*) immunostimulant enhances some innate immune parameters in b lack tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricus) against *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Applied Sciences research*. 8(2):1052-1058. ISSN 1819-544X.
- Mariyono, A. Wahyudi and Sutomo. 2002. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala melalui pengendalian populasi bakteri di laboratorium. *Buletin Teknik Pertanian*, 7(1): 25-27.
- Martin, G.G. and L.B. Graves. 1985. Structur and classification of shrimp haemocytes. *J. Morfology*. 185:339-348
- Nudo, L. P., & Catap, E. S. (2012). Anti-immunosuppressive effects of chromolaena odorata (Lf.) king & robinson (asteraceae) leaf extract in cyclophosphamide-injected Balb/C mice. *Philippine Journal of Science*, 141(1), 35–43.
- Onkaramurthy, M., Veerapur, V. P., Thippeswamy, B. S., Madhusudana Reddy, T. N., Rayappa, H., & Badami, S. (2013). Anti-diabetic and anti-cataract effects of *Chromolaena odorata* Linn.; In streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.023>
- Ohimain E, and Nodu M. 2013. Antibacterial Activity of Ethanol , Crude and Water Extract of *Chromolaena Odorata* Leaves on S Typhi and E Coli. *Greener Journal of Microbiology and Antimicrobials*, vol. 1, issue 2354-2284 (2013).
- Subyakto, S., 2011. Kondisi Terkini Sumberdaya Ikan Hasil Budidaya dalam Mendukung Industrialisasi Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan

- Budidaya. Disampaikan pada Kuliah Umum dalam Rangka Bulan Mutu dan keamanan Hasil Perikanan FPIK UB 19 Nopember 2011.
- Phan, T., Wang, L., See, P., Grayer, R.J., Chan, S., dan Lee, S.T. 2001. Phenolic Compounds of *Chromolaena odorata* protect cultured skin cells from oxidative damage: Implication for cutaneous wound healing. Biol. Pharm. Bull. 24(12) 1373-1379.
- Robertson, P.A.W., J. Calderon, L. Carrera, J.R. Stark, M. Zherdmant and B. Austin, 1998. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. Dis. Aquat. Organ., 32: 151-155
- Saeed, M., O., 1995. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine Fish in Kuwait. Aquaculture. 136: 21-29.
- Saravanakumar A., K. VenkaTeshwaran, J. Vanitha, M. Ganesh, M. Vasudevan and T. S. ivakumar. 2009. Evaluation of Antibacterial Activity, Phenol and Flavonoid Contents of *Thespesia Populnea* Flower Extracts. J. Pharm. Sci., 22.(3), July 2009, pp. 282-286
- Soto-Rodriguez, S.A., A. Roque, M.L. Lizarraga-Partida, A.L. Guerra-Flores and B. Gomez-Gil, 2003. Virulence of luminous vibrios to *Artemia franciscana* nauplii. Dis. Aquat. Organ., 53: 231-240
- Sunaryanto, A. and A. Mariam. 1986. Occurrence of pathogenic bacteria causing luminescent in Penaeid larvae in Indonesia hatcheries. Bull. Brackish Water Aqua. Dev. Cent. 8(2): 64-70.
- Suryati, E. and Hala, Y. 1993. Bioactivity of *Isotoma longiflora* on *Pseudomonas* sp. In *Proceeding of 30th Faculty of Mathematics and Natural Science seminar*, ed. M. Kumanireng, pp 31-33. Ujung Pandang: Hasanuddin University.
- Tassanakajon, A. dan Somboonwiwat, K. 2011. Antimicrobial Peptides From The Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* – A review. Diseases in Asian Aquaculture VII. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Selangor, Malaysia. hal: 229 – 240.

Lampiran 1. Instrumen Capaian

Luaran yang direncanakan dan capaian

No	Luaran yang direncanakan	Capaian
1.	Seminar Internasional	Sudah dilaksanakan Oral Presenter at international Symposium MarSave 2018 pada tgl 7 Agustus 2018 di Hotel Gammara Makassar (Sertifikat terlampir)
2.	Seminar Nasional	Telah dilaksanakan Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan V pada tanggal 7 Agustus 2018 di Hotel harper Makassar (Sertifikat terlampir)
3.	Jurnal Internasional/ Nasional bereputasi	Final Decision: Accepted After Minor Revision
4.	Produk yang dihasilkan	Metode
	HKI (Paten sederhana)	Buku “ Penyakit Bakterial pada Udang windu” Nomor Pencatatan Hak Cipta 000113316

Lampiran 2 Sertifikat Symposium Internasional



Lampiran 3 Sertifikat seminar Nasional



Lampiran 4. Draft Prosiding Internasional terindeks Scopus

Effect of *Chromolaena odorata* as bioactive compound in artificial diet on survival rate of tiger prawn *Penaeus monodon*

Harlina¹⁾, Rosmiati²⁾, Syahrul Jafar¹⁾, Sukmawati³⁾, Nurhidayah²⁾, Kamaruddin²⁾

¹Faculty of Fisheries and Marine Science, Universitas Muslim Indonesia, Jalan Urip

Sumoharjo Km 05, South Sulawesi Indonesia

²Research Institute for Coastal Aquaculture and Fisheries, Jalan Makmur Dg.Sitakka No.129 Maros, South Sulawesi Indonesia

³Faculty of Economy, Universitas Muslim Indonesia, Jalan Urip Sumoharjo Km 05, Makassar South Sulawesi, Indonesia

Email: harlina.harlina@umi.ac.id

Abstract. The *Chromolaena odorata* leaves can be used as alternatives bioactive compound to deal with high mortality due to outbreak of *Vibrio* sp in both larvae rearing and grows out. The study aimed to determine the effect of *Chromolaena odorata* leaves on survival and growth performance of tiger shrimp *Penaeus monodon*. Four different formulated diet with concentrations of *Chromolaena odorata* leaves; 1250 mg/kg, 1500 mg/kg, 1750 mg/kg, control (0 mg/kg) were fed to the infected tiger prawn by *Vibrio harveyi*. The data were collected on total hemocyte count (THC), phenoloxidase (PO) and survival rate. One way ANOVA was applied for statistical analysis. The results showed that the *Chromolaena odorata* leaves were able to increase immune response of infected tiger prawn by *vibrio harveyi*. This was indicated by the increasing of total haemocyte count (THC), phenoloxidase (PO) and survival rate with the value of 0.05×10^6 cells /mL, 0.05 and 84 %, respectively at the formulated diet of 1500 mg/kg feed. The increasing of the immune response of tiger prawn led to the resilience of shrimp against *Vibrio harveyi*. As a result, the survival rate of tiger prawn was higher than the control.

Keywords: *Chromolaena odorata*, *Penaeus monodon*, Immune Response, and *Vibrio harveyi*

1. Introduction

The tiger prawn or *Penaeus monodon* Fabricius is an important fishery commodity in Indonesia. The production of tiger prawn reached 353% in 2010¹. However, the successful production of tiger prawn has been hampered by disease outbreak leading to high mortality and financial loss².

Vibrio bacteria cause a major issue in aquaculture. These bacteria can be found in almost all marine culture organisms, such as crustacean, mollusks, and fish³. *Vibrio harveyi* is a pathogen to post-larvae (PL-14) with the density of 107 CFU/mL⁴. Chemical and antibiotic products are often applied for disease outbreak prevention and control. Nevertheless, the use of chemicals and antibiotics lead to bacteria resistance, antibiotic residues, and environmental pollution. Due to the side effect of chemical and antibiotic residues on human health, tiger prawn commodity from Indonesia has been received a negative attention for the last few years. Therefore, the use of an environmentally friendly compound for disease outbreak is highly recommended.

The *Chromolaena odorata* or well-known as ‘kopasanda’ leaves contain bioactive compounds which can be used as a natural antibacterial. It increases the growth and survival rate, disease resistance. Moreover, it modulates the immune parameters (Total Haemocyte Count (THC) and

Differential Haemocyte Count (DHC). Kopasanda has a function as an immune-stimulant which is able to prevent *Vibrio* spp infection by increasing the fagocytosis activity. This is known as a non-specific defense mechanism against disease outbreak.

Kopasanda leaves contain natural antibacterial such as flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, and tannin⁵. Based on the antibacterial bioassay, kopasanda leaves extract has a strong antibacterial activity with the inhibition zone of 22 mm. This suggests that the kopasanda leaves extract is the future of natural bioactive compound source. It can significantly reduce the number of *vibrio harveyi* population⁶. Kopasanda leaves contain no toxic affect on tiger shrimp post larvae⁷. No damage was found on histopatological hepatopancreas⁸. It is indicated the bioactive compound of kopasanda leaves safe to be used as bactericide in prevention of vibrio outbreak.

The application of natural antibacterial compound through immersion method has been applied. However, the method is less effective due to large amount antibacterial dosage used and uneconomical. Therefore, the study aimed to determine effects of kopasanda leaves extract incorporated in feed formulation on the survival rate and growth of tiger prawn *P. monodon*.

2. Materials and Methods

2.1. *Chromolaena odorata* leaves preparation

Chromolaena odorata sample was collected from Marana Experimental Pond Station of Research Institute for Coastal Aquaculture and Fisheries, Maros, South Sulawesi. The samples were dried by using herb drying at the temperature below 40 °C for overnight. The dried leaves were then crashed into powder form by using a blender. The powder leaves were filtered with a soft filter and weight to obtain the concentration of 1250, 1500 and 1750 mg/kg for making artificial feed.

2.2. Preparation of Artificial Diet.

The nutritional compositions of different diets are showed in Table 1.

Table 1. The composition of different formulated feeds treatments

Materials	Conc. Unit	Treatments			
		A	B	C	D
Fish flour	%	40	40	40	40
Shrimp head flour	%	10	10	10	10
Copra cake	%	9	9	9	9
Corn flour	%	12	12	12	12
Soybean flour	%	17	17	17	17
Wheat flour	%	10	10	10	10
Vitamin and mineral	%	2	2	2	2
Kopasanda leaves	(mg/kg feed)	1250	1500	1750	0
Total	%	100	100	100	100
Crude protein	%	38.21	38.21	38.21	38.21
Crude lipid	%	9.27	9.27	9.27	9.27
Fiber crude	%	4.52	4.52	4.52	4.52
Ash content	%	12.48	12.48	12.48	12.48
NFE	%	32.86	32.86	32.86	32.86
Total Energy	(Kcal/kg feed)	1646	1646	1646	1646

All the materials for feed formulation of each treatment were mixed with hot water to form dough. The dough was printed using a mini-pelletizer. Pellets were sun dried using oven at 40°C for 12 h. The pellet was ground into powder form before fed to the larvae.

2.3. Test Animal

Four days post larvae (PL-4) of black tiger prawn were collected from a commercial hatchery in Barru Regency, South Sulawesi, Indonesia. Larvae were acclimatized in the plastic bag at the Marana Experimental Pond Station of Research Institute for Coastal Aquaculture and Fisheries, South Sulawesi for an hour. The larvae were reared in hapa size of 1 x 0.8 x 1 m with the rearing water height (0.5 m), salinity (28 ppt) and post larvae density (200 post larvae/m³), respectively for

21 days. The test animals were fed with treated diet (Table 1) during the rearing period. Feeding was given at 4 % of body weight four times a day (06:00 am, 10:00 am, 02:00 pm, and 06:00 pm).

2.4. Experimental Design

A completely randomized design was applied to four different formulated diets: 1250 mg/kg, 1500 mg/kg, 1750 mg/kg, and 0 mg/kg (control) of kopasanda leaves with three replicates for each treatment.

2.5. Challenge Test

The challenge test was performed to larvae at PL-25. This test was carried out by challenging the tiger shrimp post larvae with *V. harveyi* strain (MR 275 Rif) with the density of 5×10^6 CFU/mL. Three liters volume of conical glass container were filled with 2 L of filtered and chlorinated seawater at 30 ppt and continuously aerated during the experimental period. Thirty reared post larvae (PL-25) were randomized selected and transferred into each the prepared conical glass containers. The post larvae were then adapted for 2-3 hours before being challenged with *V.harveyi*.

2.6. Parameters for Evaluating Efficacy of Immunostimulant

To determine the immune response of challenged post larvae, there was measured several parameters describing the activity of immune system of shrimp post larvae as followed:

2.6.1. Total Haemocyte Count (THC)

The total haemocyte count (THC) was done according to⁹. The challenged post larvae of each treatment (n=5) were placed in 1.5 mL of Effendorf filled with 400 μ l of anticoagulant (Na- citrat 3,8%). The post larvae were then ground by using plastic pastel and homogenized by shaking using hand. Haemolymph was taken out using pipette and placed on hemocytometer (*Improved Neubauer type*). Total Haemocyte Count was carried out under a binocular light microscope at 40 x 100 times magnification¹⁰. Total Haemocyte Count was calculated by using the equation as followed:

$$N = \left(\frac{n1 + n2 + n3 + n4 + n5}{5} \right) \times 25 \times 10^4$$

Note:

N = Total Haemocyte Count (cell/mL)

n1, n2, n3, n4, n5 = the number of haemocyte in small square of haemocytometer (cell)

2.6.2. Differential Haemocyte Count (DHC)

Differential haemocyte count (DHC) was obtained based on the method Martin and Graves¹¹. Haemolymph was dropped on a glass object. A smear made from the droplet of haemolymph was allowed to air dry and fixed in absolute methanol for 5-10 minutes, stained with 4 % Giemsa for 15-20 minutes and subsequently washed with distilled water. Differential haemocyte was then counted by grouping haemocyte cell to three types of cell (granular, semigranular and hialin) under a microscope (400 of magnification). A 100 of total of haemocyte cell type was counted and calculated with following equation:

$$\text{DGC (\%)} = \frac{\text{The number of haemocyte cell type}}{\text{Total haemocyte}} \times 100\%$$

2.6.3. Prophenoloxidase Activity Assay

Prophenoloxidase activity (ProPO) was measured according to the method as described by Liu & Chen¹². ProPO was observed by using spectrophotometer Genquant Merck with the absorbance of 490 nm. ProPO was measured by the formation of dopachrome from *L*dihydroxyphenil alanine (L-DOPA) on a Multi-scan ELISA reader. Haemolymph was centrifuged at 700 rpm, at temperature 4 °C for 20 minutes, The supernatant was removed and pellet was washed with 1 ml *cocodylate-citrate buffer* (0,01 M *sodium cacodylate*, 0,45 M *Sodium chloride*, 0,10 M *Trisodium citrate*; pH 7) and re-centrifuged at the same condition. The pellet yielded was solved in *cacodylate buffer* (0.01 M *Sodium cacodylate*; 0.45 M *Sodium Chloride*; 0.01 M calcium chloride; 0,26 M

Magnesium Chloride; pH 7) and homogenized. The solution was then divided in two parts of 100 μ l each. One part was incubated for 10 minutes at 25° C with 50 mL *trypsin* (1 mg.mL⁻¹ *cacodylate buffer*) as *elisator*, and then added with 50 μ l L-DOPA for 5 minutes continued to be added with 800 μ L *cacodylate buffer*. Another part around 100 μ L of cell *suspension* was added 50 μ L *cacodylate buffer* (trypsin substitute) and 50 μ L LDOPA was used as the control for *background* ProPO activity. Optical density of ProPO activity was measured with *spectrophotometer* at the absorbance of 490 nm and expressed by the formation of dopachrome in 50 μ L haemolymph.

2.7. Survival Rate

Survival Rate of post larvae was calculated using the equation according to Effendie¹³ as followed:

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100 \%$$

Note: SR = Survival Rate
Nt = Final number of post larvae
No = Initial number of post larvae

2.8. Data analysis

One way ANOVA was applied for statistical analysis with SPSS 21Version. The significant different (P<0.05) was further tested with Tukey test.

3. Results and Discussion

3.1. Effect of Immunostimulant On ProPhenoloxidase (proPO) Activity

ProPhenoloxidase (proPO) Activity is responsibility in the process of foreign particles or pathogen destruction. The enzyme was activated by ProPhenoloxidase gen. ProPO activates phenoloxidase to catalyze phenol oxidase to be quinine which led to melanin creation¹⁴. The result of ProPO activity observation of post larvae infected by *V.harveyi* are illustrated Figure 1.

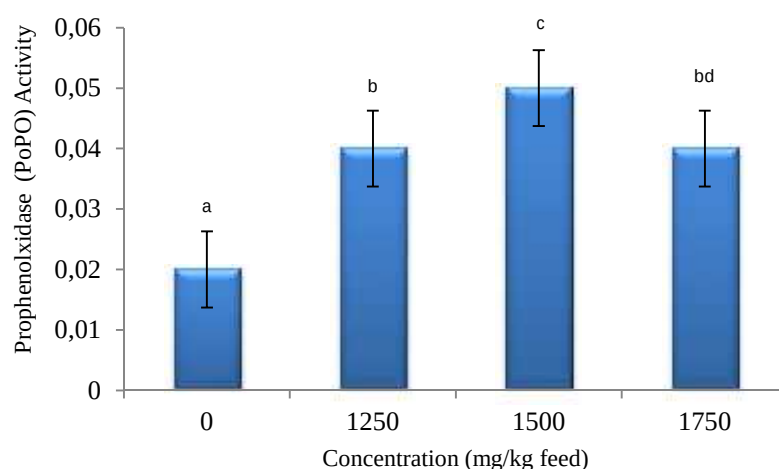


Figure 1. Prophenoloxidase (proPO) Activity of post larvae infected by *V.harveyi* fed with artificial feed of *C. odorata* leaves bioactive compound

Based on the artificial diet contains *C. odorata* leaves bioactive compound showed higher ProPO activity than the control (without *C.odorata* bioactive compound). The highest ProPO activity was obtained at treatment C with the ProPO activity value of 0.05, followed by treatment B, D and A treatment. There was significant difference of the treatment C compared to the treatment, B, D and A (P>0.05). Nevertheless, the treatment B did not show any difference compared to the treatment D.

Bioactive compound of *C.odorata* leaves can activate ProPO indicated by the higher ProPO activity of post larvae infected by *V.harveyi* and fed with artificial diet containing the bioactive. Cells of granular, cell type and semi-granular cell are known as haemocyte cell which has an active function on ProPO activity. Hyaline cell has a function in phagocyte activity¹⁵.

3.2. Effect of Immune stimulant on Total Haemocyte Count (THC)

The first body protection of crustacean is the hard carapace which followed by haemolymph cell. Haemocyte can be found in the haemolymph. The haemocyte cells have an important function in the immune response of shrimp against disease infection¹⁶. Total haemocyte cell can be identified as an indicator of shrimp health.

Total Haemocyte Count (THC) in the post larvae challenged with *Vibrio harveyi* was higher than the control as shown in Figure 2. The highest THC was found in the concentration of 1500 mg/kg feed with the THC value of $0,05 \times 10^6$ cells/mL followed by the concentration of 1250 and 1750 mg/kg diet with the THC value of $0,04 \times 10^6$ cells/mL, respectively. The lowest of that was exhibited by the control (untreated kopasanda leaves bioactive compound) with the THC value of $0,02 \times 10^6$ cells/mL. It indicated that the addition of natural material kopasanda leaves in the concentration of 1500 mg/kg feed have potency as an immunostimulant.

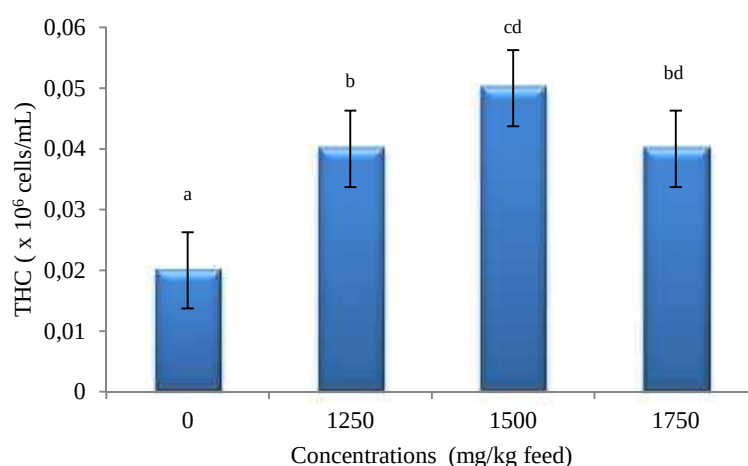


Figure 2. Total Haemocyte Count of post larvae challenged by *V.harveyi* and fed with kopasanda compound in the different concentrations

Haemocyte is the main component of invertebrate protection system circulated in haemolymph. It has a function as automatic response to pathogen or injured tissue¹⁷. Total haemocyte can affect the ability of host to give a reaction against foreign material and several response on the infections¹⁸.

Kopasanda (*C. Odorata* L) obtains bioactive compounds such as phenolic, steroid, flavonoid, and alkaloid¹⁹ which can function as an antibacterial^{20,22}, anti-diabetes dan antikatarac²² and antiinflammanatory²³. In addition, kopasanda was able to heal the wound. It also contains phenolic acid and flavonoid which can be used as antioxidant²⁴. Furthermore, bioactive compound of *C.odorata* could increase the immunity of white mice by increasing phagocytic activity, lysosim and reactive oxygen species (ROS)²⁵.

3.3. Effect of Immune-stimulant On Survival Rate

The survival rate of post larvae fed with artificial diet with and without *C. odorata* leaves bioactive compound for 6 days of post challenge are shown in Figure 3.

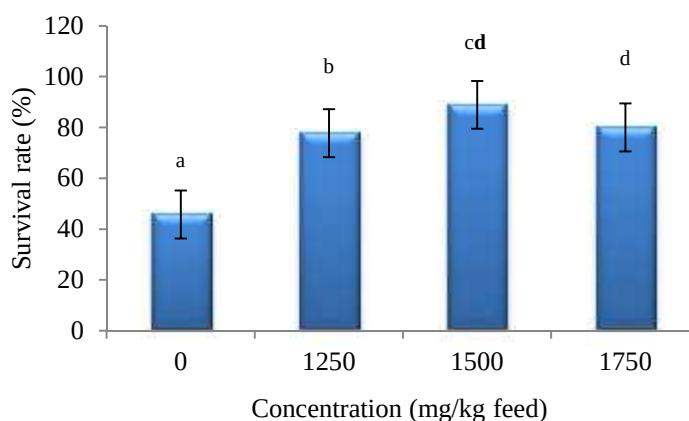


Figure 3. The percentage of survival rate of post larvae fed with artificial diet of supplementary *C. odorata* leaves and challenged with *Vibrio harveyi* in different concentration of feed

The highest percentage of survival rate was found in 1500 mg/kg treatment (85.56 %) followed by the 1250 mg/kg, 1750 mg/kg, and 0 mg/kg feed (control) with the survival rate value of 45.78, 77.78 and 80.00 %, respectively. The survival rate of post-larvae fed with artificial diet treatment was higher than the control after 6 days challenged with *V. harveyi*. It suggested that bioactive compound of *C. odorata* positively affect an immune response of the post-larvae. The post-larvae challenged with *V. harveyi* and fed with *C. odorata* bioactive compound of 1500 mg/kg treatment showed a significant difference ($p > 0.05$) compared to 1250 mg/kg, 1750 mg/kg and 0 mg/kg feed. Meanwhile, post-larvae challenged by *V. harveyi* and feeding with 1250 mg/kg diet did not show any difference compared to 1750 mg/kg treatment. The *C. odorata* leaves can increase the immune response of post larvae on pathogen of *V. harveyi*. The positive interaction among parameters of post larvae immune against *V. harveyi* leads to the low mortality of shrimp. The body immune system of crustacean, including shrimp, is dominated by hemocyte in the hemolymph. The introduced of foreign material to the shrimp may cause an increase of hemolymph production as defense mechanism. In the haemolymph, the phagocytic activity occurred which are done by hyaline and semi-granular cell. The phenoloxidase activity and active of antibacterial by the antimicrobial peptide, (AMPs) such as penaidins, crustin and anti-lipopolysaccharide factors (ALFs) are actively dealing with the patogen²⁶.

CONCLUSSIONS

The supplementation of kopasanda in tiger prawn diet was able to increase the immune response of infected tiger prawn larvae with *Vibrio harveyi*. It was indicated by the increasing of total haemocyte count (THC) (0.05×10^6 cells/mL), phenoloxidase (PO) (0.05) and survival rate (89 %), respectively which obtained in the formulated diet of 1500 mg/kg of kopasanda.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to acknowledge Directorate of Research and Community Service Fund, Kemenristek-Dikti who provided research grants competing in the contract: DIPA.042.06.1.401516/2017. We would like also to express our gratitude to Rector of Universitas Muslim Indonesia and chairman of the research and Human Resource Development and his staffs. The authors express their gratitude to the head of Research Institute for Coastal Aquaculture and Fisheries Extension, Maros Regency, South Sulawesi for the use of laboratory facilities in analysing parameters of Immunostimulant

REFERENCES

- [1] Subyakto, 2011. Current Conditions of Aquaculture Fish Resources to Support Fisheries Industrialization. Directorate General of Aquaculture. Presented at a Public Lecture in the Framework of Quality and Safety of FPIK UB Fisheries Product November 19, 2011.
- [2] Mariyono, A. Wahyudi and Sutomo. 2002. Controls on *Vibrio* Outbreak through Bacteria population at Laboratory. Buletin Teknik Pertanian, 7(1): 25-27.
- [3] Isnansetyo, A. T., E. P, Setyowati, and H. H., Anshory, 2009. *In vitro* Antibacterial Activity of Methanol Extract of a Sponge, *Geodia* sp. Against oxytetracyclin-resistant *Vibrio harveyi* and its toxicity. J. Biol. Sci 9: 224-230.
- [4] Kadriah, I.A.K. 2012. Analysis of Morphological Diversity, Physiology, Genetic and Phagocyte test *Vibrio* sp. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 127 hal.
- [5] Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, and H. Nursyam, 2013a. The Identification of Chemical Compaund and Antibacrerial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Again Vibriosis-causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Tiger Prawn. *Aquatic Science and Tecnology*, 1(2),15-29. <http://dx.doi.org/10.5296/ast.plii.3558>.

- [6] Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, and H. Nursyam, 2013b. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Against Vibriosis-causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Tiger Prawn. *Aquatic Science and Tecnology*, 1(2), 15-29. <http://dx.doi.org/10.5296/ast.plii.3558>.
- [7] Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, and H. Nursyam, 2013c. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Against Vibriosis-causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Tiger Prawn. *Aquatic Science and Tecnology*, 1(2), 15-29. <http://dx.doi.org/10.5296/ast.plii.3558>.
- [8] Harlina, H., A. Prajitno, E. Suprayitno, H. Nursyam and Rosmiati 2015a. Potential Study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *J. Aquac Res Development*, 6(10) <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000372>
- [9] Chen, T.T., 2000. Aquaculture biotechnology and fish disease. In: Hardjito, L. (Ed.). International Symposium.
- [10] Blaxhall, P. And Daishley, K. 1973. Some Blood parameters of the Rainbow Trout. The Kamloops variety. *J. Fish. Biol.* 5:1-8
- [11] Martin, G.G. and L.B. Graves. 1985. Structure and classification of shrimp haemocytes. *J. Morphology*. 185:339-348
- [12] Liu C.H. and J.C. Chen. 2004a. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. 16:321 – 334.
- [13] Effendi, I. 1997 Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- [14] Braak, K. Van den. 2002a. Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (*Panaeus monodon*). PhD thesis, Wageningen University – with ref. – with summary in Dutch. Netherlands. 159 pages
- [15] Kakoolaki, S., Soltani, M., Ebrahimzadeh, M.H.A., Sharifpour, I., Mirzargar, S., Afsharnasab, M. dan Motalebi, A.A. 2011. The effect of different salinities on mortality and histopathological changes of SPF imported *Litopenaeus vannamei*, experimentally exposed to white spot virus and a new differential hemocyte staining method. *Iranian Journ. of Fisheries sciences*. hal. 10(3): 447 – 460.
- [16] Braak, K. Van den. 2002b. Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (*Panaeus monodon*). PhD thesis, Wageningen University – with ref. – with summary in Dutch. Netherlands. 159 pages
- [17] Battison, A., Cawthorn, R. & Horney B. (2003). Classification of *Homarus americanus* hemocytes and the use of differential hemocyte counts in lobsters infected with *Aerococcus viridans* var. *homari* (Gaffkaemia). *Journal of Invertebrate Pathology*, 84:177-197.
- [18] Johansson, M.W, P. Keyser, K. Sritunyalucksana & K. Soderhall. (2000). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquacultur* 191 : 45-92
- [19] Harlina, A. Prajitno, E. Suprayitno, and H. Nursyam, 2013d. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Activity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaf Extract Against Vibriosis-causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Tiger Prawn. *Aquatic Science and Tecnology*, 1(2), 15-29. <http://dx.doi.org/10.5296/ast.plii.3558>.
- [20] Ohimain E, and Nodu M. 2013. Antibacterial Activity of Ethanol, Crude and Water Extract of *Chromolaena odorata* Leaves on *S. Typhi* and *E. Coli*. *Greener Journal of Microbiology and Antimicrobials*, vol. 1, issue 2354-2284 (2013).
- [21] Harlina, H., A. Prajitno, E. Suprayitno, H. Nursyam and Rosmiati 2015b. Potential Study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *J. Aquac Res Development*, 6(10) <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000372>
- [22] Onkaramurthy, M., Veerapur, V. P., Thippeswamy, B. S., Madhusudana Reddy, T. N., Rayappa, H., & Badami, S. (2013). Anti-diabetic and anti-cataract effects of *Chromolaena odorata* Linn.; In streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.023>
- [23] Hanh, T. T. H., Hang, D. T. T., Van Minh, C., & Dat, N. T. (2011). Anti-inflammatory effects of fatty acids isolated from *Chromolaena odorata*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10), 760–763. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60189-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60189-2)

- [24] Phan, T., Wang, L., See, P., Grayer, R.J., Chan, S., dan Lee, S.T. 2001. Phenolic Compounds of *Chromolaena odorata* protect cultured skin cells from oxidative damage: Implication for cutaneous wound healing. *Biol. Pharm. Bull.* 24(12) 1373-1379.
- [25] Nudo, L. P., & Catap, E. S. (2012). Anti-immunosuppressive effects of *chromolaena odorata* (Lf.) king & robinson (asteraceae) leaf extract in cyclophosphamide-injected Balb/C mice. *Philippine Journal of Science*, 141(1), 35–43.
- [26] Tassanakajon, A. dan Somboonwiwat, K. 2011. Antimicrobial Peptides From The Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* – A review. *Diseases in Asian Aquaculture VII*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Selangor, Malaysia. hal: 229 – 240.

 REPUBLIK INDONESIA KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA	
SURAT PENCATATAN CIPTAAN	
Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:	
Nomor dan tanggal permohonan	: EC00201822788, 2 Agustus 2018
Pencipta	
Nama	: Dr. Ir. Harlina Usman, MP
Alamat	: Jl. Racing Centre Komp Perum UMI Blok G/5, RT/RW:002/007, Kel/Desa: Karampuang, Kecamatan Panakukang, Makassar, Sulawesi Selatan, 90231
Kewarganegaraan	: Indonesia
Pemegang Hak Cipta	
Nama	: Dr. Ir. Harlina Usman, MP
Alamat	: Jl. Racing Centre Komp Perum UMI Blok G/5, RT/RW:002/007, Kel/Desa: Karampuang, Kecamatan Panakukang, Makassar, Sulawesi Selatan, 90231
Kewarganegaraan	: Indonesia
Jenis Ciptaan	: Buku
Judul Ciptaan	: PENYAKIT BAKTERIAL PADA UDANG WINDU
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia	: 1 Juni 2018, di Makassar
Jangka waktu perlindungan	: Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.
Nomor pencatatan	: 000113316
adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon. Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.	
	a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
	 Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS. NIP. 196611181994031001